

**„Stellenwert einer exogenen Surfactanttherapie im Rahmen der experimentellen
Lungentransplantation- Evaluation des optimalen Zeitpunktes der Applikation“**

**Dissertation
Zur Erlangung des akademischen Grades
doctor medicinae (Dr. med.)**

**vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena**

von Marcel Vollroth

geboren am 20.06.1981 in Sondershausen

Erster Gutachter: Prof.Dr. Th.Witter, Jena
Zweiter Gutachter: Prof.Dr. M.Bauer, Jena
Dritter Gutachter: Prof.Dr. J.Albes, Bernau

Tag der öffentlichen Verteidigung: 01.09.2009

Abkürzungsverzeichnis

A	Arteria / Arterie
ABO	Blutgruppensystem
Abb.	Abbildung
ALI	akute Lungeninsuffizienz
Alv	Alveole
AOC	absolute Oxygenierungskapazität
ARDS	acute respiratory distress syndrome
ATP	Adenosintriphosphat
BAL	bronchoalveoläre Lavage
BE	Base Exzess
BOS	Bronchiolitis-obliterans-Syndrom
C	Celsius
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
Ca ²⁺	Kalzium
cF	Mukoviszidose
cGMP	zyklisches Guanosinmonophosphat
Cl ⁻	Chlorid
cm	Zentimeter
CO ₂	Kohlendioxid
COPD	Chronisch obstruktive Lungenerkrankung
DLX	Doppellungentransplantation
dPO ₂	absolute Oxygenierungskapazität
dynes*sec*cm ⁻⁵	Einheit des pulmonal-vaskulären Widerstandes
ECMO	Extrakorporale Membranoxygenierung
EK	Erythrozytenkonzentrat
ET-1	Endothelin 1
FEV 1	funktionelle Einsekundenkapazität
FiO ₂	inspiratorische Sauerstofffraktion
flowL	Lungenperfusionsrate
g	Gramm
h	Stunden
HIV	Humanes Immundefizienz Virus
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
IL	Interleukin
IPF	idiopathische pulmonale Fibrose
ISHLT	International Society for Heart and Lung Transplantation
K ⁺	Kalium
Kap.	Kapitel
kDa	Kilodalton
KH-Lösung	Krebs-Henseleit-Lösung
kSurf	kein Surfactant (Kontrollegruppe)
LAP	Linksatrialer Druck
L:D	Licht:Dunkelheit
LPD	low potassium dextran
M	Mittelwert
Mm	Mikrometer
m ²	Quadratmeter
MG	Molekulargewicht

Mg ²⁺	Magnesium
Min	Minuten
ml	Milliliter
ml/kg KG	Milliliter pro Kilogramm Körpergewicht
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mmol	Millimol
N ₂	Stickstoff
Na ⁺	Natrium
Na ⁺ -K ⁺ -ATPase	Natrium-Kalium-Adenosintriphosphatase
NO	Stickstoffmonoxidanion
nRDS	Frühgeborenen Atemnotsyndrom
O ₂	Sauerstoff
O ₂ ⁻	Superoxid-Anionen
OH ⁻	Hydroxylradikale
OXabs	absolute Oxygenierungskapazität
P	Signifikanz
PAF	platelet activating factor
PAP	pulmonal-arterieller Druck
PdcoxCO ₂	Kohlendioxidpartialdruck des desoxygenierten Blutes
PdcoxO ₂	Sauerstoffpartialdruck des desoxygenierten Blutes
PEEP	positiver endexpiratorischer Druck
pH	pH-Wert
PIP	pulmonal-inspiratorischer Spitzendruck
PoxCO ₂	Kohlendioxidpartialdruck des oxygenierten Blutes
PoxO ₂	Sauerstoffpartialdruck des oxygenierten Blutes
PPH	primär pulmonale Hypertonie
PVR	pulmonal-vaskulärer Widerstand
ReTx	Retransplantation
S	Surfactant
SD	Standardabweichung
SLTx	Einzellungentransplantation
SOD	Superoxiddismutase
SP-A	Surfactant Protein A
SP-B	Surfactant Protein B
SP-C	Surfactant Protein C
SP-D	Surfactant Protein D
SurfiReperf	Surfactant während Reperfusion
SurfnIsch	Surfactant nach Ischämie
SurfvIsch	Surfactant vor Ischämie
Tab.	Tabelle
TNF	Tumornekrosefaktor
U	Internationale Einheit
UW	University of Wisconsin
V	Vena/Vene
V	Volumen
V (alved/Lunge)	Intraalveolöres Ödem
V (alvedery/Lunge)	Intraalveoläre Erythrozyten
V (alved-alvedery/Lunge)	Gesamtheit von intraalveolärem Ödem und Erythrozyten
VEGF	Vascular-Endothelial-Growth-Factor
ZNS	Zentralnervensystem

Inhaltsverzeichnis

1. Zusammenfassung	8
2. Einleitung	10
2.1. Einführung	10
2.2. Historische Entwicklung der Lungentransplantation	12
2.3. Struktur der Lunge	13
2.3.1. Makro- und Mikromorphologie der Lunge	13
2.3.2. Das pulmonale Surfactant-System	14
2.3.3. Aufbau und Funktion der Surfactantbestandteile	15
2.4. Klinischer Stand der Lungentransplantation	17
2.4.1. Indikationen zur Lungentransplantation	17
2.4.2. Gegenwärtige Wartelistensituation	18
2.4.3. Möglichkeiten der Erweiterung des Organangebotes	19
2.5. Pathologie der Lungentransplantation	21
2.5.1. Ischämie- und Reperfusionsschaden	21
2.5.2. Störungen des Surfactant-Systems	26
2.5.3. Postoperative Komplikationen	27
2.5.4. Bronchiolitis obliterans	28
2.6. Grundlagen der Organkonservierung	28
2.6.1. Historisches	28
2.6.2. Konservierungslösungen	29
2.6.3. Physikalischen Konservierungsbedingungen	31
2.6.4. Optimierung der Organkonservierung durch exogene Surfactanttherapie	32
3. Ziele der Arbeit	34
4. Material und Methodik	35
4.1. Lungenperfusionsmodell	35
4.2. Versuchsgruppen	36
4.3. Konservierungslösung	37
4.4. Surfactantpräparat	37
4.5. Präparation und Lungenkonservierung	38

4.5.1. Narkose	38
4.5.2. Tracheotomie und endotracheale Intubation	38
4.5.3. Laparotomie und Heparinisierung	39
4.5.4. Thorakotomie	39
4.5.5. Klippen der großen Gefäßstämme und Kanülierung des Truncus pulmonalis	40
4.5.6. Kanülierung des Herz-Lungen-Paketes	41
4.5.7. Ischämiezeit	42
4.6. Reperusionslösung	42
4.6.1. Gewinnung des Erythrozytenkonzentrates	42
4.6.2. Die Krebs-Heseleit-Lösung	43
4.7. Modell der extrakorporalen Reperfusion	44
4.8. Fixierung der Lungenpräparate	46
4.9. Funktionelle Zielparameter	47
4.9.1. Parameter der Respiration	47
4.9.2. Parameter der Gasaustauschfunktion	47
4.9.3. Parameter der Hämodynamik	48
4.10. Stereologische Ödemquantifizierung	48
4.11. Statistische Verfahren	49
5. Ergebnisse	50
5.1. Tiergewichte	50
5.2. Funktionelle Parameter des extrakorporalen Reperusionsmodells	51
5.2.1. Absolute Oxygenierungskapazität (AOC)	51
5.2.2. Pulmonal-inspiratorischer Spitzendruck (PIP)	52
5.2.3. Pulmonal-vaskulärer Widerstand (PVR)	54
5.3. Lichtmikroskopisch-Stereologische Auswertung	55
6. Diskussion	60
6.1. Diskussion der Methodik	60
6.1.1. Tiermodelle	60
6.1.2. Großtiermodelle	60
6.1.3. Extrakorporales Kleintiermodell der Ratte	61
6.1.4. Reperfusat	62

6.1.5. Standardbedingungen	62
6.1.6. Verwendetes Surfactantpräparat	63
6.1.7. Konservierungs- und Lagerungsbedingungen	63
6.1.8. Untersuchte Parameter	64
6.2. Diskussion der Ergebnisse	65
6.2.1 Tiergewichte	65
6.2.2. Absolute Oxygenierungskapazität (AOC)	65
6.2.3. Pulmonal-inspiratorischer Spitzendruck (PIP)	66
6.2.4. Pulmonal-vaskulärer Widerstand (PVR)	67
6.2.5. Stereologische Ödemquantifizierung	68
6.3. Interpretation des zeitlichen Einflusses der Surfactantapplikation	69
6.4. Schlussfolgerung	70
7. Verzeichnisse	71
7.1. Tabellen	71
7.1.1. Absolute Oxygenierungskapazität (AOC)	71
7.1.2. Pulmonal-inspiratorischer Spitzendruck (PIP)	71
7.1.3. Pulmonal-vaskulärer Widerstand (PVR)	72
7.1.4. Stereologische Parameter	72
7.2. Abbildungsverzeichnis	73
7.3. Tabellenverzeichnis	74
8. Literaturverzeichnis	75
9. Anhang	88
9.1. Danksagung	88
9.2. Lebenslauf	89
9.3. Ehrenwörtliche Erklärung	90
9.4. Publikationsnachweis	91

1. Zusammenfassung

Einleitung

Bei Patienten im Terminalstadium von Lungenerkrankungen unterschiedlichster Genese hat sich in den letzten 25 Jahren die Lungentransplantation zur Therapieform der Wahl entwickelt. Trotz intensiver Bemühungen zur Realisierung optimaler Konservierungsstrategien der Spenderorgane, konnte im Gegensatz zu anderen Transplantationsverfahren das Langzeitüberleben von Lungentransplantierten in den letzten Jahren nicht wesentlich gesteigert werden. Vor allem der Ischämie- und Reperfusionsschaden führt in der frühen postoperativen Phase zum Transplantatversagen und limitiert damit entscheidend die Überlebensrate transplantierte Patienten. Beim ischämie- und reperfusionsbedingten Lungendefizit kommt es durch eine Vielzahl biochemischer und pathophysiologischer Vorgänge zu einer Beeinträchtigung des für die pulmonale Gasaustauschfunktion enorm wichtigen Surfactantsystems. Der Erhalt der funktionellen und strukturellen Integrität dieser oberflächenaktiven Molekülorganisation rückte hinsichtlich der Optimierung neuer Lungenkonservierungskonzepte immer mehr in den Fokus des wissenschaftlichen Interesses. Die aktuell verwendeten „kaliumarmen-extrazellulären“ Konservierungslösungen wurden im Tierexperiment bereits erfolgreich durch eine exogene Surfactanttherapie der Spenderlungen ergänzt.

In dieser Arbeit wurde spezifisch untersucht, welchen Einfluss der Zeitpunkt der endobronchialen Surfactantgabe auf die postischämische Transplantatfunktion hat.

Material und Methodik

Als kostengünstige und effektive Screeningmethode wurde das extrakorporale Reperusionsmodell der Ratte ausgewählt, dass sich durch eine Vielzahl von Projekten zur Lungenkonservierung gut etabliert hat. In vier Gruppen zu je fünf Tieren wurde der zeitliche Einfluss einer exogenen Surfactanttherapie untersucht. Dabei wurde eine Kontrollgruppe nicht mit Surfactant behandelt. Die Testgruppen unterschieden sich hinsichtlich einer „präischämischen“, „postischämischen“ und „20 Minuten postischämischen“ endobronchialen Surfactantapplikation. Nach vierstündiger Ischämiezeit wurden alle Lungen über fünfzig Minuten mit einer desoxygenierten erythrozytenhaltigen Lösung perfundiert und maschinell ventiliert. Die Gasaustauschfunktion wurde mittels Blutgasanalysen in zehnminütigen Intervallen beurteilt. Weiterhin wurden respiratorische und hämodynamische Parameter erhoben. Die Analyse morphologischer Lungenveränderungen in Form von alveolären Ödem-

und Erythrozytenformationen erfolgte auf der Grundlage von lichtmikroskopisch-stereologischen Verfahren.

Ergebnisse

Die Lungen, die eine präischämische Surfactanttherapie erhielten, zeigten gegenüber der Kontrollgruppe und den postischämisch therapierten Gruppen deutlich bessere Oxygenierungsleistungen, die durch die stereologischen Daten weiter unterstrichen werden. Ultrastrukturell ist in der präischämisch therapierten Gruppe die Dimension der alveolären Ödem- und Erythrozytenformation am geringsten.

Auf Parameter der Respiration und Hämodynamik hatte die exogene Surfactanttherapie keinen erkennbaren Einfluss.

Schlussfolgerung

Es konnte gezeigt werden, dass durch eine exogene präischämische Surfactanttherapie des Spenderorgans das Ausmaß eines ischämie- und reperfusionsbedingten Oxygenierungsschadens, im Gegensatz zu keiner oder zu postischämischen Surfactanttherapien, vermindert werden kann. Dabei scheint auf Grundlage der gewonnenen Ergebnisse die Erhaltung der morphologischen und funktionellen Integrität des pulmonalen Surfactantsystems der Schlüssel zu einer besseren Konservierungsqualität von Spenderlungen zu sein.

Im weiteren Schritt sollten auf dem Weg zur klinischen Etablierung die vorgestellten Ergebnisse im Großtierversuch bestätigt werden.

2. Einleitung

2.1. Einführung

Die Lungentransplantation entwickelte sich in den letzten 25 Jahren von einem experimentellen Ansatz zu dem klinisch etablierten Verfahren der Wahl bei Patienten im Terminalstadium einer Lungenerkrankung, die trotz maximaler konservativer Therapie einen progredienten Verlauf zeigt (Franke et al., 2000). Zu den häufigsten Indikationen der parenchymatösen Erkrankungen zählen die chronisch obstruktive Lungenerkrankung (COPD), die idiopathische pulmonale Fibrose (IPF), die Mukoviszidose (cF) und das α -1-Antitrypsin-Mangel-Emphysem. Daneben gelten vaskuläre Erkrankungen wie die primär pulmonale Hypertonie (PPH) und chronisch infektiöse Leiden als weitere vertretbare Operationsindikationen. Bei schwerwiegenden kardiovaskulären Krankheitsbildern und kongenitalen Vitien mit Eisenmengerreaktion wird die kombinierte Herz-Lungentransplantation bevorzugt (Hertz et al., 2002).

Nach den Angaben der „Internationalen Gesellschaft für Herz- und Lungentransplantation“ (ISHLT, 2007) stagniert die Zahl der weltweit durchgeführten Operationen seit 1993 zwischen 1400 und 1500 Einzel- und Doppellungentransplantationen pro Jahr. Grund ist der Mangel an geeigneten Spenderorganen bei einer stetig steigenden Anzahl von transplantationsbedürftigen Patienten. Aus diesem Missverhältnis ergibt sich die weltweite Sterblichkeit der Patienten auf der Warteliste für eine Lungentransplantation von 20 % für das erste Jahr und 40 % für das zweite Jahr. Um diesem Notstand zu begegnen, bedarf es neuer und innovativer Ansätze der Spenderallokation, zu denen möglicherweise die Lockerung der Spenderkriterien, die Transplantation von Organen herztoter Spender (Non-Heart-Beating Donor), die Xenotransplantation, die Lebendspende von Lungenlappen oder die Entwicklung künstlicher Überbrückungssysteme zählt.

Wegweisend für die klinische Etablierung der Lungenverpflanzung waren die Entwicklung innovativer Operationstechniken und Konservierungsabläufe sowie die Einführung höher potenter Immunsuppressiva. Trotz dieser Fortschritte konnten in den vergangenen 20 Jahren die 1- und 5-Jahresüberlebensraten von 80 % bzw. 45 %, im Gegensatz zu anderen Organtransplantationen, nicht wesentlich gesteigert werden (Kamler et al., 2005; ISHLT, 2007). In 15 % bis 35 % der Fälle kommt es in der frühen postoperativen Phase nach Transplantationen zur akuten Transplantatdysfunktion, der meist ein durch suboptimale

Konservierungsprozesse induzierter Ischämie- und Reperfusionsschaden zu Grunde liegt. Dieser komplexe nichtinfektiöse Entzündungsprozess, der die Langzeitprognose von Lungentransplantierten signifikant verschlechtert, ist durch die Entstehung intraalveolärer Ödeme und die Zerstörung der gesamten Lungen- aber vor allem Surfactantultrastruktur gekennzeichnet. Die Vielfalt eines Ischämie- und Reperfusionsschadens reicht von einem mild verlaufenden Lungenschaden (ALI) bis hin zum akuten Lungenversagen (ARDS) mit einer Mortalität von bis zu 20 %.

Durch eine Reihe tierexperimenteller Studien konnte in der Vergangenheit belegt werden, dass der Erhalt der funktionellen und strukturellen Integrität des Surfactantsystems einen wesentlichen Faktor bei der optimalen Konservierung von Lungentransplantaten darstellt.

Gegenwärtig ist in der klinischen Praxis die Flushperfusion mit sogenannten „kaliumarmen-extrazellulären“ Lösungen mit Dextran-Zusatz (LPD-Lösung) der Standard. Sie entsprechen in ihrer Elektrolytzusammensetzung dem Extrazellulärraum und haben nachweislich durch antiödematöse, antivasokonstriktive und zytoprotektive Eigenschaften einen positiven Einfluss auf die postoperative Transplantatfunktion.

Die pharmakologische Beeinflussung des Ischämie- und Reperfusionsschadens ist Gegenstand einer Reihe aktueller Studien. Dabei ist vor allem die Möglichkeit einer exogenen Surfactantbehandlung der Lungentransplantate in den Fokus des Interesses gerückt. Einige Lungenerkrankungen (nRDS, ARDS), bei denen es zur Alteration des Surfactantsystems kommt, werden im klinischen Alltag bereits erfolgreich mit exogenen Surfactantpräparaten therapiert.

Auf der Grundlage dieser Therapiemethoden und erster tierexperimenteller Erkenntnisse zur exogenen Surfactanttherapie bei Lungentransplantation, ist und bleibt das pulmonale Surfactantsystem und dessen medikamentöse Beeinflussung im Hinblick auf den akuten Ischämie- und Reperfusionsschaden von großem Interesse und könnte in naher Zukunft eine Schlüsselrolle bei der Therapie der frühen Organdysfunktion bei Lungentransplantierten einnehmen.

2.2. Historische Entwicklung der Lungentransplantation

Die ältesten Berichte über Transplantationsversuche gehen zurück bis in das 12. Jahrhundert vor Christus, wo aus der hinduistischen Mythologie Sagen über die Verpflanzung von Elefantenköpfen auf menschliche Körper bekannt sind.

Im 18. Jahrhundert experimentierte der Schotte John Hunter an der Transplantation von Zähnen, Hoden und Geweben, ohne dabei Gefäße zu verbinden. Er erkannte bereits zu jener Zeit die Probleme einer Abstoßung, die, je nach Spender und Empfänger, unterschiedlich schwer verlief. Alexis Carrell schuf durch die Erarbeitung von Operationstechniken zur Gefäßanastomosierung wesentliche Grundlagen für die Transplantation von soliden Organen. Für seine Forschungsarbeit wurde er 1912 mit dem Nobelpreis für Medizin ausgezeichnet.

Der russische Physiologe V. P. Demikov transplantierte 1947 erstmals Lungenlappen bei Hunden. Ein Tier überlebte bereits sieben Tage. Dennoch veröffentlichte er erst 1962 seine Ergebnisse im englischsprachigen Raum (Demikov, 1962).

Mit der Entwicklung verbesserter Narkoseverfahren und antiseptischer Vorgehensweisen wurden gute Rahmenbedingungen für die Erprobung am Menschen geschaffen. Nach einer Reihe von Versuchen an Hunden transplantierte Dr. J. Hardy am 11. Juni 1963 an der University of Mississippi erstmals eine Einzellunge einem 58-jährigen Patienten mit Bronchialkarzinom. Der Patient verstarb am 18. postoperativen Tag an terminalem Nierenversagen. Bei der Obduktion fand sich ein unauffälliges Lungentransplantat ohne Zeichen einer Abstoßungsreaktion (Hardy, 1999).

In den folgenden Jahren wurden bis 1983 international insgesamt 40 Lungen transplantiert, ohne dass, bis auf einen Fall aus dem Jahr 1971, die postoperative Phase von den Patienten überlebt wurde (Grover et al., 1997; Derom et al., 1971).

Durch eine zügige Entwicklung und Etablierung verbesserter Operationstechniken sowie nach der Einführung des Cyclosporin A als potentes Immunsuppressivum im Jahre 1983, gelang es Dr. J. Cooper an der University of Toronto, in den folgenden Jahren enorme Erfolge auf dem Gebiet der Lungentransplantation zu verzeichnen. Er verpflanzte mit seiner Arbeitsgruppe sieben Lungen, wovon fünf sehr gute Langzeitergebnisse erkennen ließen (Cooper et al., 1987; Toronto-Lung-Transplant-Group, 1986).

Gegen Ende der neunziger Jahre des letzten Jahrhunderts wurde die Lungentransplantation zu einem etablierten Verfahren in der Herz- und Thoraxchirurgie. Bis zum Jahr 2005 wurden weltweit über 14.000 Transplantationen durchgeführt, wovon ca. 6.500 bilaterale und 7.500 Einzellungentransplantationen waren (Kamler et al., 2005).

Zum gegenwärtigen Zeitpunkt transplantieren ca. 100 Zentren weltweit Lungen in einer Größenordnung von insgesamt etwa 1.500 Organen pro Jahr.

Zwischen den Jahren 1995 und 2002 stagnierte die Zahl der jährlich verpflanzten Organe auf einem Wert zwischen 1.400 und 1.500 (Hertz et al., 2002). Grund war der Mangel an geeigneten Spenderorganen bei einer stetig steigenden Zahl von Patienten auf der Warteliste, nicht zuletzt durch die Ausweitung der Operationsindikationen für Lungentransplantationen. Daraus ergab sich die bis heute noch bestehende durchschnittliche Sterblichkeit auf der Warteliste von international 20 % für das erste Jahr und 40 % für das zweite Jahr.

Im Zeitraum der Jahre 2003 bis 2007 war ein positiver Trend zu beobachten. Die Anzahl der jährlichen Lungenverpflanzungen stieg auf nationalem sowie internationalem Niveau wieder leicht an (ISHLT, 2007).

Gegenüber den Anfängen haben sich die Einjahresüberlebensraten erkennbar verbessert. Lagen sie in den Jahren 1988 bis 1992 bei 62 %, stiegen sie in jüngerer Zeit auf 80 % (Hertz et al., 2002). Gründe sind vor allem die bessere Selektion der Transplantationspatienten, steigende Erfahrungen im perioperativen Management sowie eine optimale postoperative Infektophylaxe. Im Gegensatz dazu stagniert die Fünfjahresüberlebensrate weltweit bei 50 %, was vor allem auf das häufige Auftreten der chronischen Transplantatabstoßung in Form der Bronchiolitis obliterans zurückzuführen ist. In dieser Hinsicht steht auch noch heute die Lungentransplantation in Bezug auf das Langzeitüberleben hinter anderen Organtransplantationen weit zurück (Kamler et al., 2005).

2.3. Struktur der Lunge

2.3.1. Makro- und Mikromorphologie

Die Lunge als bedeutendster Bestandteil des Atmungssystems ist Ort des lebenswichtigen Austausches von Sauerstoff und Kohlendioxid entlang eines Konzentrationsgradienten.

Die im Nasen- und Rachenraum erwärmte und angefeuchtete Luft gelangt über das Bronchialsystem in die alveolären Lungenbezirke. Die bläschenförmigen Alveolen begrenzen polygonale Lufträume und enthalten in ihrer Gesamtheit die für den Gasaustausch entscheidenden histologischen Strukturen. Je nach Alter, Geschlecht und Körpergröße variiert ihre Anzahl zwischen 300 und 400 Millionen. Durch die dichte Lage wird eine Oberflächenvergrößerung zwischen 120 und 140 m² erreicht (Ochs, 2006).

Alveolarsepten bilden eine sehr feinschichtige, morphologische Barriere zwischen benachbarten Alveolen und dem vaskulären System. Infolgedessen sind sie für die Integrität der Blut-Luft-Schranke von großer Bedeutung. Ihr histologischer Aufbau imponiert durch eine außergewöhnliche Feinheit der Schichten zwischen Alveole und Kapillare. Die Diffusionsstrecke für Sauerstoff und Kohlendioxid ist im Mittel auf 2,2 µm reduziert und ermöglicht einen optimalen Gasaustausch im Rahmen der pulmonalen Kontaktzeit.

Innerhalb der Alveolarsepten verlaufen kollagene und retikuläre Bindegewebsfasern sowie reichlich Blutgefäße in einem dichten Netzwerk elastischer Fasern. Dieses stabile Gerüst garantiert die während der Atemarbeit erforderliche Dehnbarkeit des Lungenparenchyms. In den Septen haben Mastzellen, Makrophagen und Lymphozyten wichtige immunologische Aufgaben.

Das alveoläre Epithel ist aus zwei unterschiedlichen Zelltypen aufgebaut. Pneumozyten vom Typ I bilden eine besonders flache Deckzellpopulation, die zu 90 % den Alveolarraum kontinuierlich auskleidet. Charakteristisch für ihre einfache Zellstruktur sind die wenigen Mitochondrien und das spärlich ausgebildete endoplasmatische Retikulum. Die runden, vor allem in alveolären Nischen gelegenen Pneumozyten Typ II haben ihre Hauptaufgabe in der Produktion und Sekretion von Surfactant, das als oberflächenaktiver, homogener Phospholipidfilm den alveolären Kollaps verhindert. Aufgrund dieser Funktionen finden sich intrazellulär viele Mitochondrien und raues endoplasmatisches Retikulum neben einem gut entwickelten Golgi-Apparat. Immunologische Prozesse steuern Typ II Alveolarepithelzellen durch die Produktion und Sekretion verschiedener Zytokine (Fehrenbach, 2001).

2.3.2. Das pulmonale Surfactant-System

Das pulmonale Surfactant (surface-active-agent), dessen Existenz erstmals 1929 durch van Neergaard postuliert wurde (van Neergaard, 1929), überzieht den alveolären Raum als dünner, elektronenmikroskopisch sichtbarer Film. In seiner Funktion verhindert es vor allem während der Endexpiration den Kollaps der Alveolarräume. Surfactant senkt die Oberflächenspannung an der Luft-Wasser-Grenzfläche (Antiatelektasefaktor). Nach der La Place'schen Regel verhält sich der Innendruck einer Alveole umgekehrt proportional zu ihrem Radius. Der Surfactantfilm senkt diesen Druck, der hin zu den kleinsten Alveolen immer größer werden würde, nahezu gegen null.

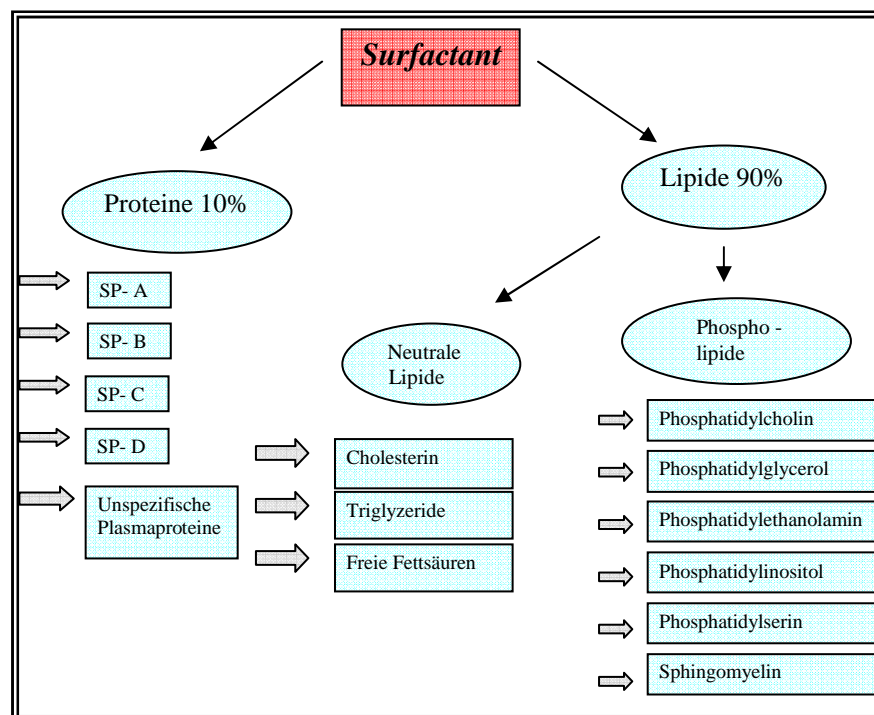
Surfactant hat weiterhin protektive Wirkung auf die Entstehung interstitieller und alveolärer Lungenödeme (Antiödemfaktor). Ferner erfüllt es wichtige Aufgaben der pulmonalen

Infektabwehr. Störungen dieser immunologischen Funktionen sowie pathologische Veränderungen der Surfactanthomöostase haben eine große Bedeutung für das Auftreten einer Vielzahl von Lungenerkrankungen (Hamm et al., 1996; Fehrenbach et al., 2001).

In Hinblick auf Lungentransplantationen konnte von Ochs et al. im Tierversuch gezeigt werden, dass beim Ischämie- und Reperfusionsschaden die Alteration des Surfactantsystems im Zusammenhang mit der Entwicklung von intraalveolären Ödemen und einer damit verbundenen akut einsetzenden Transplantatdysfunktion steht (Ochs et al., 1999).

2.3.3. Aufbau und Funktion der Surfactantbestandteile

Surfactant ist ein Stoffgemisch, dessen Trockenmasse sich zu ca. 90 % aus Lipiden und zu ca. 10 % aus Proteinen zusammensetzt. Es wird in seiner Gesamtheit von Typ II-Pneumozyten synthetisiert, gespeichert, sezerniert und fast vollständig reutilisiert. Die Zusammensetzung der Surfactanttrockenmasse gibt die Abbildung [2.3.3.] schematisch wieder.



[Abb.2.3.3.] Zusammensetzung der Surfactanttrockenmasse

Die Proteinfraction besteht zu 50 % aus unspezifischen Plasmaproteinen. Die restlichen 50 % sind die sogenannten spezifischen Surfactant Proteine SP-A, SP-B, SP-C und SP-D, welche durch ihre besondere Bedeutung innerhalb der Homöostase sowie der biophysikalischen und

immunologischen Integrität des Surfactantsystems auch als „*smart molecules in the surfactant system*“ bezeichnet werden (Hawgood und Clements, 1990).

Die Surfactant Proteine A (Molekularmasse 28-36 kDa) und D (Molekularmasse 43 kDa) sind hydrophil und gehören zur Gruppe der Kollektine. Beide erfüllen wichtige Aufgaben der lokalen Infektabwehr. Sie sind in der Lage, verschiedenste obligat und fakultativ pathogene Mikroorganismen und Alveolarmakrophagen zu binden (Opsonierung). So ermöglichen sie eine schnelle Phagozytose und oxidative Lyse inhalierter Keime (Crouch und Wright, 2001). Außerdem stabilisiert SP-A das pulmonale Surfactant und wirkt einer proteinbedingten Inaktivierung entgegen. Bedeutend ist SP-A auch bei der Regulierung von Sekretion und Wiederaufnahme des Surfactant durch Typ II-Pneumozyten. Den Schutz jener Pneumozyten vor Apoptose garantiert ebenfalls die SP-A Proteinfraction (White et al., 2001). Der Einfluss von SP-D auf die Oberflächenaktivität von Surfactant ist noch nicht vollständig geklärt. Im Tierexperiment konnte aber gezeigt werden, dass der Mangel an SP-D die postnatale pulmonale Adaptation nicht zwangsläufig störte (Botas et al., 1998).

Bei der Verringerung der Oberflächenspannungswerte nehmen die hydrophoben Surfactant-Proteine B (Molekularmasse 8 kDa) und C (Molekularmasse 4 kDa) eine Schlüsselrolle ein. In Hinblick auf die postnatale Lungenadaptation ist vor allem SP-B essenziell für das Überleben des Neugeborenen. Robertson et al. zeigten im Experiment die Konsequenzen eines SP-B Mangels. Nach der trachealen Injektion monoklonaler Antikörper gegen SP-B in die Lungen neugeborener Kaninchen, zeigten sich Entzündungsreaktionen und proliferative Gewebeveränderungen in Form hyaliner Membranen. Funktionell war die Verminderung der pulmonalen Compliance messbar (Robertson et al., 1991). Während der Endexpiration gehen positiv geladene Abschnitte der SP-B Proteine elektrostatische Wechselwirkungen mit den negativen Kopfgruppen einzelner Phospholipide ein und wirken so einer Kompression der Alveolarräume entgegen (Cochrane und Revak, 1991). Auch die Wiederaufnahme von Surfactant in Typ II-Alveozyten wird von SP-B Proteinen positiv beeinflusst. Die Lipidfraktion enthält vorwiegend gesättigte Phospholipide (80-90 %) und neutrale Lipide (10-20 %) (Creuwles et al., 1997). Phosphatidylcholin und Phosphatidylglycerol haben quantitativ die größte Bedeutung, während Phosphatidylethanolamin, Phosphatidylinositol, Phosphatidylserin und Sphingomyelin eine untergeordnete Stellung innerhalb der Phospholipidgruppe einnehmen (Van Golde et al., 1988). Nur durch die komplexe Interaktion mit den hydrophoben Proteinen SP-B und SP-C kann eine Reduktion der Oberflächenspannung erreicht werden. Die Phospholipide richten sich dabei an der Luft-

Wasser-Grenzfläche entsprechend ihres amphiphilen Charakters aus: die hydrophoben Fettsäureenden zur Gasphase, die hydrophilen Kopfgruppen zur wässrigen Phase. Diese Protein-Phospholipid-Vernetzung wirkt einer Kompression der Alveolen entgegen und verhindert so den Kollaps der pulmonalen Gasaustauschfläche (Shiffer et al., 1988).

2.4. Klinischer Stand der Lungentransplantation

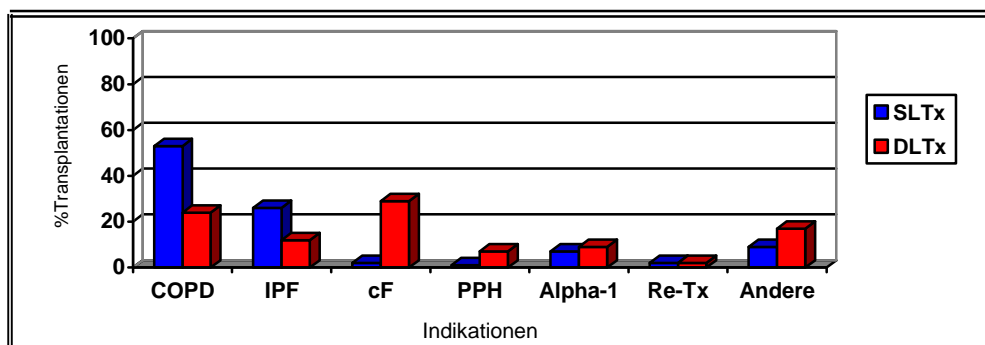
2.4.1. Indikationen zur Lungentransplantation

Nach den Richtlinien der Bundesärztekammer („Richtlinien für die Transplantation von Organen“ Bundesärztekammer vom 14. Februar 2003) gilt: „Das terminale, nicht rückbildungsfähige Lungenversagen, welches zur Aufrechterhaltung des Lebens eine medikamentöse oder apparative Ateminsuffizienzbehandlung erforderlich macht“ als Indikation für die Aufnahme auf die Warteliste zur Lungentransplantation.

Die Frage nach der optimalen Operationsstrategie bei den entsprechenden Erkrankungen wird bis heute nicht einheitlich beantwortet. Oft wird die Entscheidung von Zentrum zu Zentrum unterschiedlich getroffen.

Nach den Angaben der ISHLT (J Heart Lung Transplant, 2006) werden einseitige Transplantationen (SLTx) vor allem bei interstitiellen Lungenerkrankungen wie COPD und pulmonaler Fibrose (IPF) bevorzugt. Patienten mit cystischer Fibrose (cF) werden durch die Besiedlung ihrer Lunge mit hoch pathogenen Keimen und dem damit erhöhtem Infektionsrisiko gehäuft doppelseitig transplantiert (DLTx). Indikationen zur DLTx sind weiterhin die primär-pulmonale Hypertonie (PPH), das α 1-Antitrypsin-Mangel-Emphysem sowie Emphyseme mit ausgeprägter Lungenüberblähung (Trulock et al., 2003).

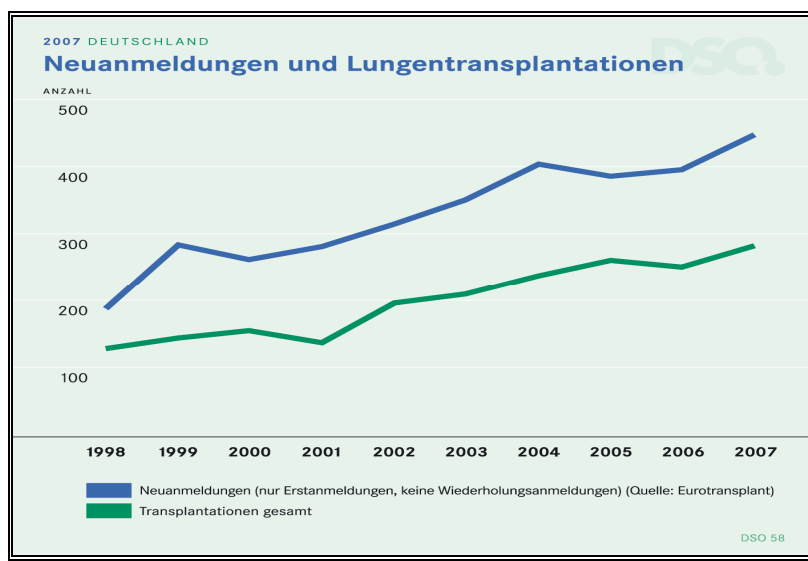
Seltenere Indikationen sind die Sarkoidose, die Bronchiektasie sowie Retransplantationen (ReTx). Das nachfolgende Diagramm [Abb.2.4.1.] zeigt die prozentuale Verteilung der Indikationen hinsichtlich angewandter Operationsstrategie.



[Abb.2.4.1.] Indikationen für Einzel- und Doppellungentransplantationen (aus *J Heart Lung Transplant* 2006. 25:880-892)

2.4.2. Gegenwärtige Wartelistensituation

Die Zahl der weltweit pro Jahr durchgeführten Einzel- sowie Doppellungentransplantationen zeigt nach einer Stagnation bis zum Jahr 2002 zum gegenwärtigen Zeitpunkt wieder leicht positive Tendenzen (ISHLT, 2007). Auch in Deutschland ist im letzten Jahr eine leichte Zunahme der Transplantationszahlen zu erkennen [Abb.2.4.2]. Dennoch können bei Weitem nicht alle Patienten einer nötigen Operation zugeführt werden. Die nachfolgende Abbildung zeigt das Missverhältnis zwischen der Anzahl jährlich durchgeführter Operationen und der Zahl von Neuanmeldungen für eine lebensrettende Lungentransplantation.



[Abb.2.4.2.] Anzahl durchgeführter Lungentransplantationen sowie jährliche Neuanmeldungen (DSO- Deutsche Stiftung Organtransplantation, 2008)

Der Grund liegt primär in dem Mangel geeigneter Spenderorgane bei einer stetigen Vergrößerung der Zahl potentieller Empfänger (Haverich et al., 2002). Aktuell ergibt sich eine Sterblichkeit auf der Warteliste von 20 % für das erste Jahr und 40 % für das zweite Jahr. Bedeutend ist die Tatsache, dass aktuell nur 10 % bis 20 % aller Spenderlungen transplantiert werden können. Häufig müssen Spenderorgane auf Grund traumatischer Veränderungen und Gewebeschäden durch Schockmediatoren und Hypoxie abgelehnt werden. Bestehen nosokomiale Pneumonien, vor allem als Folge einer Langzeitbeatmung, muss ebenso auf eine Transplantation verzichtet werden. Demgegenüber konnte Egan zeigen, dass bei optimaler Evaluation potentieller Organspender bis zu 25 % aller Spenderlungen verwendet werden könnten (Egan et al., 1992).

2.4.3. Möglichkeiten der Erweiterung des Organangebots

Durch die Akzeptanz von Organen, die vor einigen Jahren noch klare Ausschlusskriterien für eine Transplantation erfüllten, wird versucht, dem Mangel an geeigneten Spenderorganen entgegen zu wirken. Nachfolgend soll gezeigt werden, wie sich die Spender- und Organkriterien von einer idealen zu einer marginalen Definition verändert haben und welche Kontraindikationen weiterhin bestehen (Meyer et al., 2002; Orens et al., 2003; American Thoracic Society, 1998).

<u>1.) Ideale Kriterien</u>	<u>2.) Marginale Kriterien</u>	<u>3.) Kontraindikationen</u>
# Spenderalter < 55 Jahre	# Spenderalter > 55 Jahre	# Spenderalter > 60
# ABO übereinstimmend	# ABO kompatibel	# ABO inkompatibel
# akzeptable Oxygenierung, pO ₂ bei PEEP von 5 cm H ₂ O und FiO ₂ von 1,0 >350 mmHg	# Oxygenierung <350 mmHg	# starke Oxygenierungsprobleme
# unauffälliges Röntgen-Thorax	# geringfügig Infiltrate	# diffuse Infiltrate
# normaler Bronchoskopiebefund	# mäßig eitriges Sekret	# persistierender Eiter
# negative Serologie für Hepatitis B/ C und HIV		# aktive Virusinfektion
# Ausschluss einer Lungenerkrankung oder Thoraxtrauma	# limitiertes Thoraxtrauma mit Lungenkontusion	# starkes Thoraxtrauma
# negative Tumoranamnese	# primäre ZNS Tumoren	# positive Tumoranamnese

[Abb.2.4.3.] Ideale und marginale Spender- und Organkriterien sowie Kontraindikationen

Eine weitere Lockerung der Kriterien zur Transplantation sollte trotz Organmangels weiterhin kritisch betrachtet werden. Es zeigt sich ein klarer Zusammenhang zwischen den Spenderorgankriterien und dem Auftreten von Komplikationen im Langzeitverlauf von Lungentransplantationen (Haverich et al., 2002).

Die Entwicklung verbesserter Konservierungsverfahren könnte helfen, die gegenwärtig akzeptierte Ischämiezeit von 6 bis 8 Stunden zu verlängern. Eine daraus resultierende geographische Erweiterung des Spenderpools würde so zu einer verbesserten Versorgung transplantationsbedürftiger Patienten beitragen (Conte und Baumgartner, 2000).

Durch die Transplantation von Lungen herztoter Spender (Non-Heart-Beating-Donor) ergäbe sich eine weitere Möglichkeit, die Zahl der potentiellen Spenderorgane zu steigern (Steen et al., 2001). Dennoch ist dieses Verfahren durch eine Vielzahl ungelöster ethischer sowie juristischer Probleme noch nicht im Begriff, sich klinisch fest zu etablieren (Anaise und Rapaport, 1993).

Besonders bei „kleinen“ Erwachsenen und Kindern als Empfänger konnte durch die Verwendung von Lappentransplantaten ein weiterer Schritt in Richtung ideale Versorgung transplantationsbedürftiger Patienten getan werden. Durch eine atypische Resektion mehrerer Lungenbereiche, auch „Lungen-Tailoring“ genannt, profitieren mehrere Empfänger von einem Spenderorgan (Wisser et al., 1996). Bei der progredienten Verschlechterung einer cystischen Fibrose bestünde so auch die Möglichkeit, ein Einzellungentransplantat bilateral zu verpflanzen (Starnes et al., 1994).

Die Transplantation von Lungenabschnitten lebender Spender wird nur bei einer unmittelbaren Verwandtschaft zum Empfänger und absoluter Freiwilligkeit akzeptiert. Von diesem Verfahren profitieren vor allem kindliche Mukoviszidose-Patienten. Oft zeigten sich sogar bessere postoperative Ergebnisse als nach Leichenlungen-Transplantationen, welche sich durch eine erhebliche Verkürzung der Ischämiezeit der Transplantate erklären lassen. Diese Tatsache führte in den letzten Jahren zwangsläufig zu einer Ausweitung der Indikationen zur Lebendlungenspende (Barr et al., 2001). Zwar ist die perioperative Mortalität der Spender in Hinblick auf die Transplantatentnahme sehr gering, dennoch sind postoperative Komplikationen in Form von Blutungen, Infektionen und Fistelbildungen beobachtet worden (Battafarano et al., 2000).

Die Xenotransplantation insbesondere von Schweinelungen wirft erhebliche Probleme auf und ist noch weit von der klinischen Einführung entfernt. Als Folge chirurgischer Schwierigkeiten bei der Gefäßanastomosierung drohen postoperativ starke pulmonal-vaskuläre Druckanstiege. Aufgrund der Tatsache, dass Schweine und andere Säugetiere im Gegensatz zum Menschen auf ihrem Gefäßendothel α -1,3 Galaktodisaccharide exprimieren, besteht die große Gefahr einer hyperakuten Abstoßungsreaktion durch menschliche Antikörper (Platt et al., 2002).

Viele Patienten auf der Warteliste zeigen akute sowie progrediente Krankheitsverläufe, die nicht selten in einer unbedingten Respirationspflicht enden. Steht zu diesem Zeitpunkt kein passendes Spenderorgan zur Verfügung, könnten implantierbare Unterstützungssysteme eine wichtige Hilfestellung bis zur lebensrettenden Transplantation leisten (Fazzalari et al., 1994). Aktuell befinden sich diese Systeme noch auf Stufe der tierexperimentellen Erprobung,

sodass derzeit nur der Einsatz einer extrakorporalen Membranoxygenierung (ECMO) für maximal wenige Wochen diskutiert werden kann.

2.5. Pathologie der Lungentransplantation

2.5.1. Ischämie- und Reperfusionsschaden

In dem Begriff Ischämie- und Reperfusionsschaden verknüpft sich eine Vielzahl von pathophysiologischen sowie pathobiochemischen Vorgängen, welche in ihrer Gesamtheit zu einer unmittelbaren Schädigung des Transplantates führen (De Perrot et al., 2003). Bereits beim Organspender beginnt mit dem Zeitpunkt eines definierten Ereignisses, welches zum Hirntod führt, eine durch Hypoxie, mechanische Schädigung und Aspiration von Blut oder Mageninhalt verursachte Veränderung der Lungenstrukturen (Riou B et al., 1994). Liegt die Zustimmung zur Organspende vor, schließt sich eine intensivmedizinische Betreuung des hirntoten Spenders an. Dieser Zeitraum bis zur Organexplantation ist sehr häufig geprägt von starken hämodynamischen Schwankungen. Der Verlust der Thermoregulation, massive Elektrolytverschiebungen und metabolische Entgleisungen enden alle samt nicht selten in einem Gewebeödem mit zellulärer Dysfunktion (Bittner et al., 1995) Durch die mechanische Ventilation steigt weiterhin die Gefahr einer pulmonalen Infektion und Barotraumatisierung der potentiellen Spenderlunge. Eine signifikante Erhöhung der proinflammatorischen Zytokine IL-1 β , IL-6, IL-8 und TNF- α wird in einem hohen Prozentsatz bei polytraumatisierten Organspendern beobachtet und birgt die Gefahr einer progredienten Endothelzellschädigung (Roumen et al., 1993). Als Korrelat einer subklinischen Entzündungsreaktion hat IL-8 in besonderem Maß als prognostischer Faktor für die postoperative Organfunktion an Bedeutung gewonnen (Fischer et al., 2001; Rao et al., 2003; Calvin et al., 2006).

Die nachfolgenden Erläuterungen sind in der Übersicht [2.5.1.] schematisch dargestellt und sollen die Interaktionen zwischen Stoffwechsel und Immunsystem während der Ischämie- und Reperusionszeit verdeutlichen.

Kommt es als Folge einer Lungenexplantation zur Unterbrechung des pulmonalen Blutflusses, zeigt sich ohne die optimale Konservierung ein fortschreitender, postoperativer Funktionsverlust. Neben massiven Parenchymdestruktionen sind Surfactantaliterationen und intralveoläre Ödeme entscheidende Faktoren der Pathologie des Ischämie- und Reperfusionsschadens (Abunasra et al., 2001).

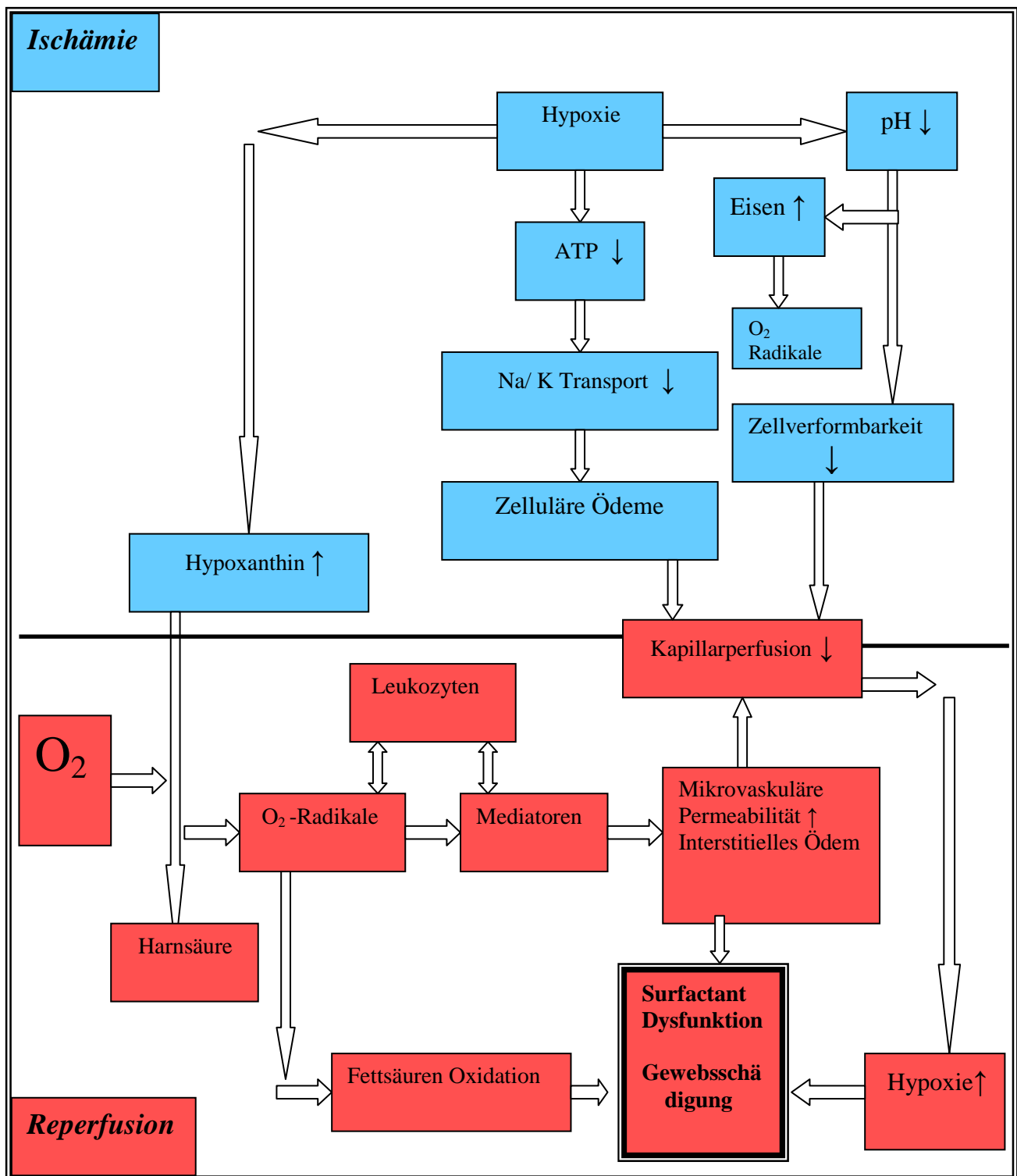
Durch Hypoxie des Spenderorgans sinkt der intrazelluläre Energiegehalt in Form von Adenosintriphosphat (ATP) und führt so zu einer reduzierten Aktivität der ATP-abhängigen Natrium-, Kalium-, Magnesium- und Kalziumpumpen. Der resultierende Ladungsausgleich zwischen intra- und extrazellulärem Milieu führt schnell zur Entwicklung eines Ödems. Durch die Anreicherung von Kalzium in den Zellen wird in großen Mengen Xanthinoxidase aus Xanthindehydrogenase gebildet. Dadurch sistiert die Umwandlung von Hypoxanthin über Xanthin zu Harnsäure.

Da Hypoxanthin das Endprodukt des ATP-Stoffwechsels ist, wird durch den zunehmenden Verbrauch energiereicher Phosphate während Ischämie der Gehalt an zellulärem Hypoxanthin noch weiter gesteigert. Vor diesem Hintergrund hat die intrazelluläre Kalziumakkumulation bedeutenden Einfluss auf die Entstehung zellulärer Funktionsverluste bzw. Störungen (Ingemansson et al., 1996).

Als Zeichen einer durch Sauerstoffmangel bedingten anaeroben Energiegewinnung zeigt sich intrazellulär eine azidote Stoffwechsellage. Im sauren Milieu vermindert sich die Stabilität lysosomaler Membranen ebenso wie das Bindungsvermögen von Spurenelementen. So erhöht sich speziell die intrazelluläre Konzentration von Eisen, das als potentieller Katalysator die Bildung toxischer Sauerstoffradikale begünstigt.

Kommt es nach der Ischämiezeit zur Reperfusion des Spenderorgans, werden zunächst die toxischen Metabolite ausgeschwemmt. Gleichzeitig wird den Zellen neuer Sauerstoff zur Energiegewinnung bereitgestellt. Einerseits werden so wieder energiereiche Phosphate gebildet, andererseits entsteht durch den Überschuss von Hypoxanthin, Xanthinoxidase und Eisen eine Vielzahl potentiell schädlicher Sauerstoffradikale. Im Einzelnen haben besonders Wasserstoffperoxid (H_2O_2), Superoxid- Anionen ($\text{O}_2^{\cdot-}$) und Hydroxylradikale (OH^{\cdot}) ein hohes toxisches Potential.

Geht man von einer physiologischen Stoffwechsellage aus, so können diese freien Radikale durch zelluläre Schutzsysteme, wie das der Superoxiddismutase (SOD), problemlos abgebaut werden. Diese Systeme sind jedoch nicht in der Lage, die übergroße Anzahl von Radikalen nach Organischämie mit anschließender Reperfusion vollständig zu neutralisieren. Das Ergebnis ist eine durch die Oxidation von Lipiden fortschreitende Membran- und Gewebsdestruktion, die neben intraalveolären- und interstitiellen Ödemen sowie Störungen der pulmonalen Surfactanthomöostase die postoperative Oxygenierungskapazität entscheidend verschlechtert (Calvin et al., 2006).



[Abb.2.5.1.] Übersicht der pathologischen Abläufe im Lungentransplantat während Ischämie und

Reperfusion

blaue Kästen: pathophysiologische Vorgänge während der Ischämiezeit

rote Kästen: pathophysiologische Vorgänge während der Reperfusion

Der Ort der Bildung toxischer Sauerstoffradikale ist das Lungenendothel. Dessen Dysfunktion während der Reperfusion wird ein bedeutender Einfluss auf die Entstehung des Ischämie- und Reperfusionsschadens zugesprochen (Vural und Oz, 2000). Die Endothelzellschädigung wird durch die Expression von Adhäsionsmolekülen für neutrophile Granulozyten induziert, welche nach ihrer Bindung Proteasen und Zytokine sezernieren und so eine weiter fortschreitende Endothelzelldestruktion begünstigen (Calvin et al., 2006). Die Funktion der Endothelzellen wird unter normalen Bedingungen, aber auch im Verlauf eines Ischämie- und Reperfusionsschadens durch das Gleichgewicht zwischen protektiven und proinflammatorischen Metaboliten bestimmt (Lefer und Lefer, 1993).

Die Mediatoren Stickstoffmonoxid, Prostazyklin und Adenosin zeichnen sich durch ihre vasodilatatorische Wirkung aus und werden als protektive Endothelprodukte bezeichnet.

Stickstoffmonoxid (NO) wird von Endothelzellen mit Hilfe der NO-Synthetase aus L-Arginin gebildet. Die Stimulation der Guanylatzyklase und die anschließende Erhöhung von zyklischem Guanosinmonophosphat (cGMP) vermitteln dessen vasodilatative Wirkung. Seinen protektiven Charakter zeigt NO auch durch die Neutralisation von Sauerstoffradikalen sowie der Hemmung von Thrombozytenaggregation und Leukozytenadhäsion. Kommt es im Rahmen eines Ischämie- und Reperfusionsschadens zur verminderten endogenen NO-Produktion, stellen sich Vasospasmen der pulmonalen Gefäßstrombahn ein. Diese führen während der Reperfusion zu einer inhomogenen Blutverteilung. Im schlimmsten Fall kommt es zu einem funktionellen Verschluss der Strombahn, was auch als „no-reflow-phenomenon“ bezeichnet wird (Ambrosio und Tritto, 1999).

Das Eikosanoid Prostazyklin entfaltet seine Wirkung über die Stimulation der Adenylatzyklase und einer daraus resultierenden Bildung von zyklischem Adenosinmonophosphat (cAMP). Neben der vasodilatativen Wirkung verhindert Prostazyklin die Neutrophilen-Adhärenz, stabilisiert lysosomale Membranen und reduziert die Thrombozytenaggregation.

Adenosin ist ein weiterer potenter Vasodilatator mit dem Vermögen, die Adhärenz von neutrophilen Granulozyten an Endothelzellen und die Neutrophiltoxizität sowie die Bildung von Superoxid-Radikalen zu verringern. Seine Wirkung zeigt Adenosin nach Aktivierung purinergere Rezeptoren, welche über einen GTP-abhängigen Mechanismus zu einer Aktivierung der Adenylatzyklase führen (Lefer und Lefer, 1993).

Die proinflammatorischen Endothelzell-Produkte besitzen neben ihrer vasokonstriktiven Potenz auch die Fähigkeit, Sauerstoffradikale zu bilden und immunmodulativ zu wirken.

Aufgrund dieser Eigenschaften gefährden sie potentiell die endotheliale Integrität des Surfactantsystems und somit zwangsläufig die des gesamten Transplantates.

Das Polypeptid Endothelin-1 (ET-1) ist einer der stärksten endogenen Vasokonstriktoren und vermittelt die Wirkung durch die Bindung an spezielle ET_A-Rezeptoren (Khimenko et al., 1996). ET-1 reguliert vor allem den pulmonal-venösen Blutfluss über einen gemischt autokrin-parakrinen Wirkmechanismus (Shouzaburoh et al., 2000). Kommt es zu hypoxischen Zuständen, zeigt sich eine vermehrte endotheliale ET-1 Genexpression und Sekretion, was die große Bedeutung des Endothelins bei der Entstehung des Ischämie- und Reperfusionsschadens verdeutlicht (Stammberger et al., 1999). Der Platelet-Activating-Factor (PAF) ist ein Phospholipid, das eine ausgeprägte Erhöhung der vaskulären Permeabilität bewirkt und weiterhin die Freisetzung von vasokonstriktiven Thromboxanen und Leukotrienen fördert (Novick et al., 1996).

Der Vascular-Endothelial-Growth-Factor (VEGF), ein dimeres Protein, das von perivaskulären Zellen gebildet wird, findet sich speziell im pulmonalen Gewebe in hoher Dichte (Meyer et al., 2001). Die durch endotheliale Phosphotyrosin-Rezeptoren vermittelte Wirkung besteht in der Aufrechterhaltung einer differenzierten physiologischen Kapillarstrombahn sowie der Reparatur von pulmonal-vaskulären Schäden (Meyer et al., 2001). Eine Reihe von Studien konnte zeigen, dass während pulmonaler Ischämie eine signifikant erhöhte VEGF-Expression stattfindet, die mit einer gesteigerten vaskulären Permeabilität assoziiert ist und VEGF als potenten Mediator der frühen Transplantat-Dysfunktion identifiziert (Becker et al., 2000).

Aus der Familie der Zytokine sind Leukotriene, die chemotaktisch die Adhäsion von neutrophilen Granulozyten an Endothelzellen induzieren und so die Produktion von Sauerstoffradikalen fördern, proinflammatorisch wirksam. Daneben führt die Freisetzung von Thromboxan zu einer starken Vasokonstriktion, welche in der Phase der Organreperfusion zu einer kritischen Minderperfusion des Transplantates führen kann. Gewebsständige Makrophagen und aktivierte Granulozyten sind für die Bildung von Zytokinen wie IL-1, IL-6, IL-8 und TNF- α verantwortlich, durch die es zu einer chemotaktisch regulierten Heranführung weiterer inflammatorischer Zellen kommt (Chang et al., 1997; Calvin et al., 2006). Die Bedeutung von Leukozyten in der Pathogenese des Ischämie- und Reperfusionsschadens konnte in den vergangenen Jahren zunehmend verstanden werden. (Downey et al., 1999). Nach den Ergebnissen jüngerer Arbeiten verläuft der leukozyteninduzierte Ischämie- und Reperfusionsschaden zweizeitig (Fiser et al., 2001). Innerhalb der ersten 30 Minuten nach Reperfusion induzieren gewebsständige

Alveolarmakrophagen des Spenders eine pulmonale Gewebedestruktion. Nach einigen Stunden führt die Einwanderung von Empfängerleukozyten in die alveolären Bezirke des Transplantats durch die Freisetzung von Proteasen, Lipasen und Sauerstoffradikalen zur fortschreitenden Gewebsschädigung (Eppinger et al., 1997). Dies äußert sich in einer Erhöhung der kapillären Permeabilität, einem verminderten Gefäßtonus und einer daraus resultierenden akuten Transplantat-Dysfunktion [Abb. 2.5.1]. Die Migration von Leukozyten des Empfängers wird durch ein komplexes System von endothelialen sowie vaskulären Adhäsionsmolekülen vermittelt (Steinhoff, 1998).

Die komplizierten und vielgestaltigen Vorgänge auf biochemischer und molekulargenetischer Ebene sollten weiterhin Grundlage intensiver Forschung sein. Durch die gezielte Beeinflussung pathologischer Vorgänge kann eventuell in naher Zukunft der akute Ischämie- und Reperfusionsschaden optimal therapiert oder sogar verhindert werden.

2.5.2. Störungen des Surfactant-Systems

Die außerordentliche Bedeutung des Surfactant-Systems für die funktionelle Integrität der Lunge konnte anhand von Studien des Frühgeborenen-Atemnotsyndroms (nRDS) eindeutig belegt werden. Bei dieser Erkrankung führt der Mangel an funktionsfähigem Surfactant zu einer erheblichen Einschränkung der pulmonalen Oxygenierungsleistung (Clements und Avery, 1998). In Anlehnung an diese Forschungsergebnisse wurde auch bei experimentellen und klinischen Lungentransplantationen die Assoziation von Ischämie- und Reperfusionsschaden zu Störungen der biochemischen und biophysikalischen Surfactanthomöostase erkannt (Casals et al., 1998; Warnecke et al., 2002).

Es kommt neben einer fehlerhaften Architektur von Surfactantmolekülen zur direkten Schädigung von Phospholipiden und Surfactant-Proteinen-A (SP-A) (Meyer und Zimmermann, 2002). Verantwortlich dafür sind vor allem reaktive Sauerstoff- und Stickstoffmetabolite, die die Peroxidation von Surfactantlipiden induzieren [Abb. 2.5.1]. Durch den Übertritt von Plasmaproteinen in den Alveolarraum verklumpen Surfactantkomponenten und werden dadurch in ihrer Funktion stark gehemmt (Günther et al., 2001). Folge ist eine starke Erhöhung der pulmonalen Compliance in Kombination mit einer insuffizienten Oxygenierungsleistung des Transplantats.

Die gegenwärtigen Meinungen über den Zusammenhang zwischen Surfactantdysfunktion und intraalveolärem Ödem sind nicht einheitlich. So gehen einige Forschungsgruppen von einer durch alveoläre Ödemflüssigkeit bedingten Surfactant-Schädigung aus. Ochs et al. konnten

demgegenüber zeigen, dass kein unmittelbarer Zusammenhang von Ursache und Wirkung zwischen pulmonal-alveolärem Ödem und Surfactantaliterationen besteht (Ochs et al., 1999). Vielmehr ist es ein Zusammenspiel, bei dem nicht nur die Inaktivierung durch Plasmaproteinlecks von Bedeutung ist, sondern auch die gesteigerte Permeabilität der Blut-Luft-Schranke zur Ödemformation und fortschreitenden Surfactant-Zerstörung führt (Ochs et al., 1999).

Vor diesem Hintergrund ist die Integrität der Typ-II-Pneumozyten während Ischämie und Reperfusion eine weitere essenzielle Bedingung, um eine optimale postoperative Lungenfunktion erreichen zu können (Ochs et al., 1999). Deshalb ist es sehr wichtig, Konservierungsprozesse weiter zu optimieren und Möglichkeiten der exogenen Surfactanttherapie tierexperimentell und klinisch intensiv zu untersuchen. Einzelne Studien konnten bereits vielversprechende Ergebnisse liefern. Kermeen et al. zeigten die Verbesserung von Compliance und Oxygenierungskapazität durch die bronchoskopische Instillation von Surfactant bei Patienten mit schwerem Ischämie- und Reperfusionsschaden nach einer Lungentransplantation (Kermeen et al., 2007).

2.5.3. Postoperative Komplikationen

Die akute Abstoßungsreaktion und Infektionen sind gefürchtete postoperative Komplikationen. Unmittelbar nach der Operation beginnt das immunsuppressive Management in Kombination mit einer antibakteriellen, antiviralen und fungiziden Therapie (Boehler, 2004). Neben bakteriellen Infekten, die oft unmittelbar postoperativ auftreten, stellen Zytomegalie-Virus-Infektionen sowie invasive Pilzinfektionen die größten Probleme dar.

Die frühzeitige Diagnose der akuten Abstoßungsreaktion ist unerlässlich und wesentlich am Langzeiterfolg einer Transplantation beteiligt. An vielen Zentren werden postoperativ „Surveillance-Bronchoskopien“ mit bronchoalveolärer Lavage und transbronchialen Biopsien durchgeführt (Gaspert et al., 2000).

Die Diagnose der akuten Abstoßung wird histologisch nach den Kriterien der „International Society of Heart and Lung Transplantation“ gestellt. Sie basiert im Wesentlichen auf dem Nachweis von perivaskulären und/oder peribronchiolären Lymphozytenmanschetten im Transplantat (Yousem et al., 1996). Der Abfall der Einsekundenkapazität (FEV₁) kann ebenfalls Hinweis auf eine akute Transplantatabstoßung sein. Zur Kontrolle führen die Patienten täglich Heimspirometrien mittels Mikrospirometer durch (Morilon et al., 2002).

Therapiert wird eine akute Abstoßung mit hoch dosierten intravenösen Steroiden in Kombination mit einer vorübergehenden Erhöhung der Basis-Immunsuppression.

2.5.4. Bronchiolitis obliterans

Die Hauptursache für Mortalität und Morbidität nach Lungentransplantationen ist auch noch heute das Bronchiolitis-Obliterans-Syndrom (BOS). Diese chronische Abstoßungsreaktion determiniert entscheidend das Langzeitüberleben der Patienten (Antus et al., 2005). Für die Diagnose, die histologisch gestellt wird, sind Fibrosen und Narbenbildungen mit Obliterationen der kleinsten Atemwege charakteristisch (Boehler et al., 2000). Da durch transbronchiale Biopsien in 15-40 % der Fälle nur unzureichende Materialmengen gewonnen werden, wurde auch hier die FEV 1 als Parameter der Transplantatdysfunktion eingeführt. Die Prävalenz für das BOS beträgt bei Patienten, die mehr als 3 Monate nach Transplantation überleben, 50 %. Die Zeit bis zum Auftreten schwankt zwischen Monaten und Jahren (Boehler, 2004). Der wichtigste Risikofaktor ist die akute Abstoßungsreaktion.

Bei den Infekten sind es vor allem virale, die bedeutende Triggermechanismen darstellen (Hodges et al., 2001). Es wird angenommen, dass alloimmun und unspezifisch bedingte Schäden des Respirationsepithels einen initialen Schlüsselreiz darstellen. In dessen Folge setzt eine überschießende entzündliche Epithel-Reparation mit anschließender Narbenbildung ein. Die Therapiemöglichkeiten sind beschränkt und oft sehr unbefriedigend. Oft wird versucht, durch die Erhöhung der immunsuppressiven Therapie die übersteigerte bronchiale Entzündung zu hemmen. Bei besonders schweren Verläufen ist nur noch eine Retransplantation die letzte Therapieoption (Boehler, 2004).

2.6. Grundlagen der Organkonservierung

2.6.1. Historisches

Die Ischämietoleranz einer entnommenen Lunge ist sehr gering. Sie beträgt unter normothermen Bedingungen höchstens 30 Minuten (Norvick et al., 1992). Um die Ischämiezeit möglichst kurz zu halten, führte man bei den ersten Transplantationen so genannte „on site“ Operationen durch (Haverich et al., 1985). In den sechziger Jahren nutzte man dann das Prinzip der Hypothermie, um ischämiebedingten Schäden vorzubeugen. Durch Kühlung werden die Umsatzraten vieler Enzymsysteme gesenkt. Ein Temperaturabfall um 10 °C führt zu einer Halbierung des Ausgangswertes (De Perrot et al., 2003).

Der verminderte Zellmetabolismus ermöglicht einen minimalen Nährstoffbedarf und hat den geringeren Anfall toxischer Metabolite und Radikale zur Folge (Chiang et al., 1999; Kelly, 2000). Die Ischämietoleranz konnte so auf 1 bis 2 Stunden gesteigert werden. In den folgenden Jahren führte der zunehmende Bedarf an Spenderorganen schnell zu der Situation, dass durch längere Transportzeiten auch längere Ischämiezeiten erreicht werden mussten. Hinsichtlich der Entwicklung optimaler Konservierungslösungen und deren Applikationswege begannen intensive Forschungsbemühungen.

2.6.2. Konservierungslösungen

Die „optimale“ Lösung muss besonderen Anforderungen gerecht werden. Sie muss Eigenschaften besitzen, die sich aus physiologischen und pathophysiologischen Überlegungen ableiten lassen. Im Transplantat muss eine hypoxisch bedingte Azidose abgepuffert werden, Zellschäden durch freie Radikale verhindert werden und Substrate müssen für die Aufrechterhaltung des Energiestoffwechsels zur Verfügung stehen (Belzer, 1993; Kelly, 2000).

Die meisten Transplantationszentren haben sich aufgrund der einfachen technischen Durchführbarkeit einer pulmonal-arteriellen Flushkonservierung angenommen (Hopkins et al., 1998). Die aktuell verwendeten Lösungen wurden empirisch aus der Konservierungspraxis anderer Organe übernommen oder speziell für die Anforderungen von Lungentransplantaten entwickelt.

Die Euro-Collins-Lösung wurde ursprünglich für die Nierenkonservierung entwickelt (Collins et al., 1969). Sie ist eine hyperosmolare Lösung und entspricht in der Zusammensetzung ihrer Elektrolyte dem Intrazellularraum. Dadurch soll der osmotische Gradient zum intravaskulären Raum möglichst klein gehalten werden, um Flüssigkeitsverschiebungen ins Parenchym zu verhindern. Durch den Zusatz von Glucose als Energielieferant wurde sie 1987 auch bei Herz-Lungen-Transplantationen klinisch angewendet (Baldwin et al., 1987). Anfänglich kam es durch den hohen Kaliumgehalt zu Vasokonstriktionen und damit zu einer inhomogenen Perfusatverteilung im Transplantat. Deshalb wurde dazu übergegangen, Vasodilatoren wie Prostaglandin und Prostazyklin vor Flush intravenös zu injizieren (Wahlers et al., 1991).

Im Jahre 1986 wurde an der University of Wisconsin, Madison/USA, die so genannte UW-Lösung als eine weitere vom intrazellulären Typ entwickelt. Die klinische Anwendung wurde zunächst ausgehend von Pankreas, Niere und Leber auf Herz-Transplantationen erweitert (Swanson et al., 1988). In tierexperimentellen Studien zur Lungentransplantation zeigte sich

die UW-Lösung der Euro-Collins überlegen und kam 1991 zur klinischen Anwendung bei humanen Lungenverpflanzungen (Hardesty et al., 1993).

Die eindeutige Erkenntnis einer durch hohes Kalium bedingten Vasokonstriktion nach Flushperfusion führte zur Entwicklung „kaliumarmer-extrazellulärer“ Lösungen. Zunächst verwendete man die „modifizierte Euro-Collins-Lösung“ oder die „modifizierte UW-Lösung“ (Bando et al., 1998). In jüngeren Studien zeigte die Verwendung dieser Perfusate eine geringere Rate an Ödemen im Transplantat (Suzuki et al., 2000).

Die Erfahrungen mit „extrazellulären“ Lösungen führten zur Entwicklung der „Low-Potassium-Dextran-Solution“ (LPD-Lösung). Klinische Studien in Japan und tierexperimentelle Studien in Kanada stuften LPD als Konservierung gegenüber der Euro-Collins-Lösung als überlegen ein (Keshavjee et al., 1998; Yamazaki et al., 1990). Der anfängliche Enthusiasmus wurde jedoch schnell getrübt, als weitere Studien adäquate Ergebnisse zwischen der LPD-Lösung und der Euro-Collins plus Prostaglandin E-1 zeigten (Puskas et al., 1992).

Eine kommerzielle LPD-Lösung ist unter dem Handelsnamen Perfadex® erhältlich. Dieses Perfusat wurde als Flush-Lösung bei allen Lungen in dieser Arbeit verwendet. In vorangegangenen tierexperimentellen Studien wurden protektive Effekte auf den Ischämie- und Reperfusionsschaden wissenschaftlich belegt (Wittwer et al., 2005). Auch Mühlfeld et al. bestätigten diese Erkenntnisse anhand stereologischer Untersuchungen. Ihre Analysen dokumentieren den protektiven Charakter von Perfadex® bei der Entstehung von intraalveolären, septalen und peribronchovaskulären Ödemen (Mühlfeld et al., 2007). Auch in der klinischen Anwendung konnte eine deutliche Verbesserung der Transplantatfunktion beobachtet werden (Mueller et al., 1999). Durch den Zusatz von Dextran (MG 40000) kommt es zur Verbesserung des mikrovaskulären Flows. Die verminderte Aggregation von Erythrozyten und Thrombozyten ist ebenfalls von Vorteil und wird durch den „coating-effekt“ vermittelt (Chien et al., 2000). Weitere Inhaltsstoffe sind Magnesium als membranstabilisierender Faktor, Phosphatpuffersubstanzen und Co-Substrat. Glukose in einprozentiger Lösung dient als Energielieferant.

Das jüngste, zunächst für Herztransplantationen entwickelte extrazelluläre Perfusat ist unter dem Namen Celsior® im Handel. Ein geringes vasokonstriktorisches Potential sowie antiödematöse Eigenschaften sind neben dem Zusatz von Glutamat als Energieträger optimale Voraussetzungen für die Anwendung im Rahmen von Lungentransplantationen. Pech zeigte allerdings im Rattenmodell, dass Celsior® bei längerer Ischämiezeit zu einem deutlichen Ischämie- und Reperfusionsschaden führte. Dieser Schaden konnte allerdings durch den

Zusatz von Dextran und die Anwendung der retrograden Flushperfusion abgemildert werden (Pech, 2003). Die durch Wittwer und Kollegen durchgeführten Versuche am Schweinmodell zeigten für Celsior® schlechte Ergebnisse (Wittwer et al., 2005).

Diese tierexperimentell erhobenen Erkenntnisse führten zu der Entscheidung, Perfadex® als Konservierungslösung der Wahl im Rahmen dieser Arbeit einzusetzen.

2.6.3. Physikalische Konservierungsbedingungen

Die Hypothermie ist eine Hauptkomponente der Lungenkonservierung, sowohl bei der Flush-Perfusion als auch in Form der topischen Organkühlung (Baldwin et al., 1987). Hypothermie vermindert katabole Stoffwechselprozesse und verringert die Aktivität von Enzymsystemen, die unter normothermen Bedingungen zu einem schnellen Verlust der zellulären Überlebensfähigkeit beitragen würden (Pegg, 1986). Die in der klinischen Praxis angewendete Flush-Perfusion mit 4°C kalter Lösung wird in neueren Arbeiten als nicht mehr adäquat beschrieben. Eine Temperatur von 8°C bis 20°C soll demnach zu weniger Gefäßspasmen und einer dadurch homogenen Verteilung der Perfusionslösung im Transplantat führen. Mehrere Studien zeigten, dass speziell die Konservierung während der Ischämiezeit mit Temperaturen um 10°C niedrigeren und höheren Temperaturen überlegen ist (Kelly, 2000).

Hinsichtlich des pH-Wertes wurden in Versuchen die besten Konservierungsergebnisse bei Werten zwischen 7,4 und 7,8 erreicht (Hiramatsu et al., 1994). Demnach empfiehlt sich für Perfadex® mit einem pH-Wert von 6 die Anhebung durch Zugabe von Tris-Puffer (Stehen et al., 1994b).

Die pulmonale Flushkonservierung wird mit einem Druck zwischen 15 und 20 mmHg durchgeführt. Dies entspricht in etwa dem pulmonalarteriellen Druck. Primär sollen Blutbestandteile möglichst vollständig aus dem Gefäßbett ausgewaschen werden und das Gesamtorgan soll rasch abgekühlt werden (Kirk et al., 1993). In einer Studie zeigten Sasaki et al., dass bereits ein Druck von 10 bis 15 mmHg die vollständige Perfusion des Gefäßsystems ermöglicht. Sie beobachteten weiterhin eine signifikant bessere postoperative Lungenfunktion als nach Flush-Konservierung mit einem Druck von 5, 20 und 25 mmHg. Drücke über 20 mmHg führen zu einer verminderten endogenen NO Produktion und bedingen so eine signifikante Endothelzell-Schädigung (Sasaki et al., 1996).

Die Ventilation der Lunge während der Flushperfusion hat positive Effekte auf die Konservierungsqualität und damit auf das Langzeitergebnis (Haverich et al., 1985).

Durch die mechanische Entfaltung kommt es zur Senkung des pulmonal-vaskulären Widerstandes (PVR) und so zu einer optimalen Verteilung des Perfusats im Gefäßsystem. Die statische Inflation mit Sauerstoff hat während der Ischämiezeit protektiven Charakter. Sie sichert den aeroben Metabolismus, gewährleistet den weiteren epithelialen Flüssigkeitstransport und ist bedeutend für die Aufrechterhaltung der Integrität des Surfactant-Systems.

Als optimal gilt ein Inflationsvolumen von 50 % der totalen Lungenkapazität (De Campos et al., 1996). Eine Beatmung mit einer $Fi\ O_2$ von mehr als 50 % hat sich als schädlich erwiesen. Die Lipidperoxidation wird dadurch verstärkt und die Entstehung eines pulmonalen Ödems gefördert. Deshalb werden derzeit in der klinischen Praxis Sauerstoffkonzentrationen von 30 und 40 % am Respirator eingestellt (Kelly et al., 2000).

2.6.4. Optimierung der Organkonservierung durch exogene Surfactanttherapie

Beim Ischämie- und Reperfusionsschaden kommt es, wie unter [2.5.2] beschrieben, durch verschiedene Inaktivierungsmechanismen zu einer Schädigung des pulmonalen Surfactantsystems. Ein innovativer Ansatz zur Verbesserung der Surfactantkonservierung und damit zur Vermeidung schwerwiegender postoperativer Komplikationen ist die Behandlung der Spenderlunge mit exogenen Surfactantpräparaten.

Beim Neugeborenen-Atemnotsyndrom (nRDS) ist die exogene Surfactanttherapie seit Jahren klinisch bestens etabliert und hat zu einer entscheidenden Verbesserung der Prognose geführt (Avery, 2000). Gegenwärtig wird dieser Therapieansatz auch bei einer Reihe von Lungenerkrankungen, bei denen es zu einer sekundären Störung des Surfactantsystems kommt (z.B. ARDS, COPD), experimentell und klinisch erprobt (Lewis und Veldhuizen, 2003). Erfolgversprechende Ergebnisse einer exogenen Surfactantapplikation bei Lungentransplantationen im Tierexperiment und zur klinischen Behandlung eines Ischämie- und Reperfusionsschadens zeigten, dass diese Therapie einen innovativen Ansatz zur Optimierung der Lungenkonservierung darstellt (Novick, 2002).

Strüber et al. untersuchten in einer prospektiven Studie den Effekt der bronchoskopischen Instillation von Surfactant in Spenderlungen auf ihre postoperative Funktion und das klinische Outcome. Sie konnten zeigen, dass die behandelten Lungen postoperativ bessere Oxygenierungsleistungen erbrachten als die der Kontrollgruppe. Die histomorphologische Analyse zeigte ein geringeres alveolo-kapilläres Leck sowie eine bessere Surfactantkonservierung in der behandelten Gruppe im Vergleich zur Kontrolle (Strüber et al.,

2007). Eine andere Arbeitsgruppe untersuchte die Möglichkeit der Surfactanttherapie beim klinischen Bild eines Ischämie- und Reperfusionsschaden nach Lungentransplantation. Sie erkannten eine Steigerung der Oxygenierungsleistungen und konnten die Überlebensraten der behandelten Patienten verbessern (Kermeen et al., 2007).

Diese Ergebnisse zeigen, dass die exogene Surfactanttherapie auch bei bereits manifestem Ischämie- und Reperfusionsschaden eine kostengünstige und nicht invasive Therapieoption darstellen kann (Kermeen et al., 2007). Die auf dem Markt befindlichen natürlichen Surfactantpräparate aus Schweine- (z.B. Curosurf®) oder Rinderlungen (Alveofact®) enthalten die Surfactantproteine SP-B und SP-C. In experimenteller und klinischer Erprobung befinden sich synthetische Surfactantpräparate, die SP-Peptidanaloga (Surfaxin®) oder rekombinante Surfactant-Proteine (Venticute®) enthalten. Aktuell gibt es auf dem Markt kein Präparat, das SP-A enthält, da bei der Aufreinigung natürlicher Surfactantpräparate die hydrophilen Proteine SP-A und SP-D verloren gehen (Lewis und Veldhuizen, 2003). Wie unter [2.3.3.] bereits erläutert, ist das SP-A ein Stabilisator aktiver Surfactantformen. Ferner schützt es Typ-II-Pneumozyten vor Apoptose sowie Surfactantmoleküle vor deren Inaktivierung durch Plasmaproteine. Es besitzt weiterhin antiinflammatorische Eigenschaften (Hawgood und Poulain, 2001). Im Tierversuch waren beim Ischämie- und Reperfusionsschaden die SP-A Spiegel in der BAL vermindert (Lewis et al., 1997). Vor diesem Hintergrund schien der Zusatz von SP-A in Surfactantpräparaten zur Vermeidung eines akuten Transplantatversagens theoretisch sinnvoll (Ochs, 2001). In einer tierexperimentellen Studie wurde dazu gezeigt, dass die Gabe von SP-A-haltigem Surfactant vor Reperfusion die Effizienz einer Surfactanttherapie signifikant verbesserte (Erasmus et al., 2002).

Bisher fehlten Untersuchungen zum idealen Applikationszeitpunkt von Surfactant im Rahmen einer optimierten Lungenkonservierung. Diese doch wichtige Fragestellung sollte mit diesem Tiermodell erarbeitet werden, denn gerade der Ischämie- und Reperfusionsschaden ist eine wesentliche Hauptursache der frühen Transplantatdysfunktion und bedarf einer Optimierung seiner Therapieoptionen.

3. Ziele der Arbeit

In einem extrakorporalen, isolierten Lungenreperusionsmodell an der Ratte sollten die Einflüsse einer exogenen Surfactanttherapie auf die Oxygenierungsfunktion der Lunge nach Ischämie und anschließender Reperfusion untersucht werden. Die funktionellen Daten sollten durch stereo-morphologische Analysen zur Integrität der Blut-Luft-Schranke und der alveolären Ödem- und Erythrozytenformation ergänzt werden.

Nachdem die exogene Surfactanttherapie tierexperimentell bereits erfolgreich angewendet wurde, sollte in dieser Arbeit der optimale Zeitpunkt der endobronchialen Applikation untersucht werden. Ziel war es, die derzeit eingesetzten Strategien der Lungenkonservierung vor allem im Hinblick auf die Erhaltung der strukturellen und funktionellen Integrität des Surfactantsystems optimieren zu können.

Das verwendete Surfactantpräparat Curosurf® ist ein natürliches Präparat, das aus Schweinelungen gewonnen wird. Da sich sein Einsatz bei der Behandlung des Frühgeborenen Atemnotsyndroms (nRDS) klinisch erfolgreich bewährt hat, wurde es für diese Versuchsreihe ausgewählt und zu drei verschiedenen Zeitpunkten in die Rattenlungen endobronchial instilliert.

4. Material und Methodik

4.1. Lungenperfusionsmodell

Das extrakorporale Lungenperfusionsmodell der Ratte wurde für die Durchführung der Experimente ausgewählt. Es stellt eine im Vorfeld von Großtierversuchen und Testreihen am Menschen kostengünstige und etablierte Methode dar.

Als Versuchstiere wurden männliche Albinoratten vom Stamm Sprague Dawley (Charles River WIGA GmbH, Sulzfeld, Deutschland) ausgewählt. Die Ratten besaßen ein mittleres Gewicht von $367,5 \pm 50,88$ Gramm und waren zwischen 3 und 6 Monate alt. Die Tiere wurden in einem offenen System gehalten (Raumtemperatur: 20–23°C; Luftfeuchte: 45 %-60 %; Beleuchtungsrhythmus Hell-Dunkel = 12:12 Stunden). In einem artgerechten Käfig (Typ M4, Firma Ehret, Emmendingen, Deutschland) befanden sich jeweils 5 Tiere. Die Versuchsratten erhielten pelletiertes Futter (Ratte/Maus Haltung Altromin 1326, Firma Altromin, Lage, Deutschland) sowie Leitungswasser.

Alle Tiere der jeweiligen Versuchsgruppen wurden nach den Empfehlungen der National Society for Medical Research („Principals of Laboratory Animal Care“) sowie den Richtlinien der National Academy of Science („Guide for the Care and Use of Laboratory Animals“, NIH Publication No. 86-23, revidiert 1985) mit der notwendigen Sorgfalt behandelt. Der notwendige Tierschutzantrag wurde bei der zuständigen Kommission der Friedrich-Schiller-Universität Jena rechtzeitig geprüft und genehmigt.

Die Präparation der narkotisierten Ratten erfolgte unter maschineller Beatmung (Kleintierrespirator: SAR 830/P, Firma IITC INC. Life Science Instruments, Woodland Hills, CA, USA). Am Respirator wurden als Beatmungsparameter ein Atemzugvolumen von 5 ml pro Atemzug, eine Atemfrequenz von 40 Zügen pro Minute, eine Inspirationszeit von 0,5 Sekunden und ein maximaler pulmonal-inspiratorischer Druck (PIP) von 12-14 cm H₂O eingestellt. Die Beatmung der Versuchstiere wurde mit einem positiv-endexpiratorischen Druck (PEEP) von 3 cm H₂O durchgeführt.

Innerhalb der Versuchsgruppen erfolgte eine aus [Tab. 4.2.1] ersichtliche spezifische experimentelle Vorgehensweise hinsichtlich des Zeitpunkts der Flushkonservierung, der Applikation von Surfactant sowie der Lungenfixation.

4.2. Versuchsgruppen

Die Ratten wurden randomisiert den 4 Versuchsgruppen zugeteilt [Tab.4.2.]. Jede Gruppe bestand aus 5 Tieren. Den Versuchstieren der Gruppen **2 (SurfvIsch)**, **3 (SurfnIsch)** und **4 (SurfiReperf)** wurde zu definierten Zeitpunkten Surfactant endobronchial instilliert. Die Ratten aus Kontrollgruppe **1 (kSurf)** erhielten kein Surfactant. Nach einer Ischämiephase von 4 Stunden bei 10°C wurden alle Herz-Lungen-Pakete wieder maschinell ventiliert. Es folgte die 50 minütige Reperfusionphase in einem extrakorporalen Kreislaufmodell mit einer erythrozytenhaltigen Perfusionslösung.

Die Erhebung der hämodynamischen und respiratorischen Parameter erfolgte während dieser Reperfusionphase. Serielle Blutgasanalysen wurden zur Beurteilung der Oxygenierungsleistung einer jeden Lunge alle 10 Minuten durchgeführt. Die Lungenpräparate wurden nach ihrer Fixation im gekühlten Zustand zur weiteren morphologischen Untersuchung an die Forschungsgruppe um Prof. Ochs nach Göttingen versandt.

<u>Gruppe</u>	<u>Versuchsinhalt</u>
1 (kSurf)	Flush → Ischämie → Reperfusion (Kontrolle)
2 (SurfvIsch)	Surfactant vor Flush → Ischämie → Reperfusion
3 (SurfnIsch)	Flush → Ischämie → Surfactant → Reperfusion
4 (SurfiReperf)	Flush → Ischämie → Reperfusion → Surfactant (n. 20 min)

[Tab.4.2.] Definition der Gruppen

4.3. Konservierungslösung

Alle Lungen der Versuchstiere aus den Gruppen 1 bis 4 wurden vor Ischämie mit Perfadex®-Lösung (Firma Vitrolife, Göteborg, Schweden) geflusht. Einen Überblick über die Zusammensetzung der verwendeten Konservierungslösung liefert die nachstehende Abbildung.

Komponenten	Einheit	Perfadex®
Na ⁺	mmol/l	138
K ⁺	mmol/l	6
Mg ²⁺	mmol/l	0,8
Cl ⁻	mmol/l	142
PO ₄ ²⁻	mmol/l	0,8
Glucose	g/l	0,91
Dextran 40	g/l	50

[Tab.4.3.] Zusammensetzung der Lungenkonservierungslösung

Die Konservierungslösung wurde gemäß dem aktuellen Standard mit einer Temperatur von 4°C und einem Druck von 15 cm H₂O über eine Kanüle im Truncus pulmonalis in das Lungengefäßsystem der Versuchstiere eingebracht. Es wurde die Dauer der Flushperfusion gemessen und protokolliert.

4.4. Surfactantpräparat

In die alveolären Lungenabschnitte der Tiere aus Gruppe **2 (SurfvIsch)**, **3 (SurfnIsch)**, und **4 (SurfiReperf)** wurde das aus Schweinelungen gewonnene Curosurf® (Firma Nycomed AG, 8830 Wädenswil Schweiz) zu definierten Zeitpunkten endotracheal instilliert. An

Inhaltsstoffen sind fast ausschließlich Phospholipide und zu 1 % hydrophobe Proteine (SP-B und SP-C) enthalten. Das Medikament wurde als sterile Suspension, mit 120 mg Surfactant pro Ampulle á 1,5 ml (80mg/ml), bei einer Temperatur von 4°C gelagert. Die Ampullen wurden vor Gebrauch unter leichtem Schwenken auf 37°C erwärmt. Die verwendete Dosis (200mg/kg KG. Curosurf®), wurde mittels einer 5 ml Einwegspritze (Firma Braun AG, Melsungen, Deutschland) auf 4-5 ml Luft aufgezogen und vorsichtig im Anschluss an ein Blähmanöver mit 23 cm H₂O über das Bronchialsystem in die Rattenlungen instilliert.

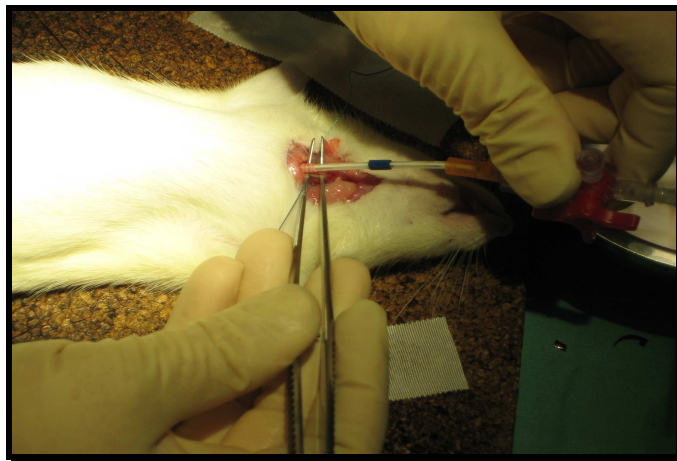
4.5. Präparation und Lungenkonservierung

4.5.1. Narkose

Vor Einleitung der Narkose wurde jedes Tier gewogen und das jeweilige Gewicht protokolliert. Anschließend erfolgte die intraperitoneale Injektion von 12mg/100g KG Pentobarbital-Natrium (Narcoren®, Firma Rhone Merieux GmbH, Laupheim, Deutschland).

4.5.2. Tracheotomie und endotracheale Intubation

Befand sich das Versuchstier in ausreichend tiefer Narkose, folgte nach Hautschnitt und Querinzision der Halsmuskulatur die Präparation der Trachea. Die Tracheotomie wurde durch einen Querschnitt zwischen zwei Knorpelspangen realisiert. Nach Einführung der Trachealkanüle wurde diese durch eine einfache Ligatur mit Nahtmaterial (3-0 Mersilene®, Firma Ethicon, Norderstedt, Deutschland) fixiert und an den Kleintierrespirator angeschlossen.



[Abb.4.5.2.] Endotracheale Intubation des Versuchstieres

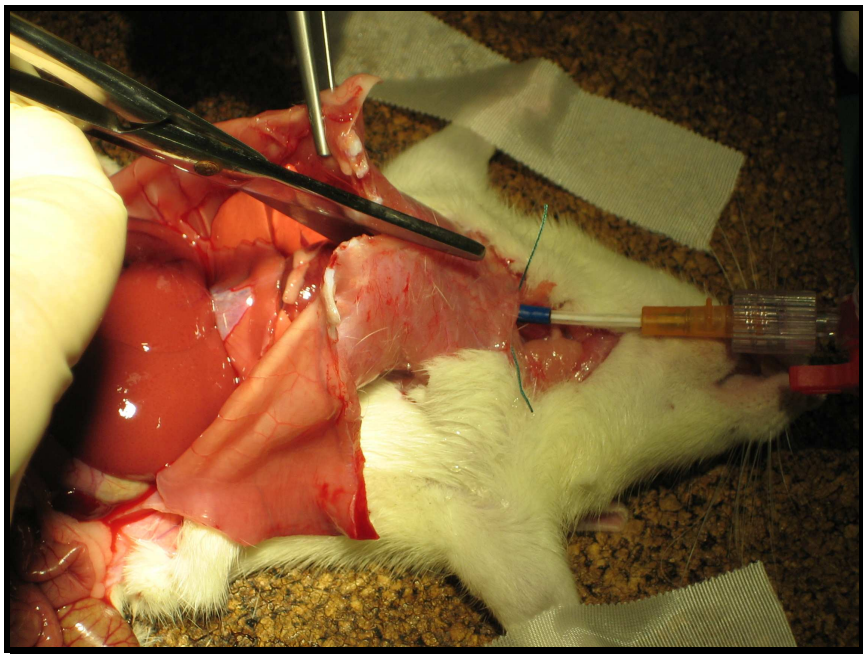
4.5.3. Laparotomie und Heparinisierung

Nach Hautschnitt und stumpfer Präparation des Unterhautfettgewebes wurde eine Laparotomie durch Kreuzschnitt durchgeführt.

Über die Vena cava inferior wurde jedem Tier eine Dosis von 1000 I.E. Heparin-Natrium (Liquemin® N 25000, Firma Hoffmann La Roche AG, Grenzach-Wyhlen, Deutschland) zur Gerinnungshemmung injiziert.

4.5.4. Thorakotomie

Zunächst wurde das Diaphragma von der Thoraxinnenwand abpräpariert. Im nächsten Schritt folgte die mediane totale Sternotomie. In diesem Moment wurde die Ventilation pausiert. Durch das Einbringen eines Wundspreizers konnte das Herz-Lungen-Paket nun optimal dargestellt werden. Um wieder eine suffiziente Ventilation zu erreichen, wurden beide Lungenflügel während zweier Beatmungszyklen im Anschluss an die Sternotomie mit einem Druck von 30 cm H₂O gebläht.



[Abb.4.5.4.] Mediane, totale Sternotomie des Rattenthorax

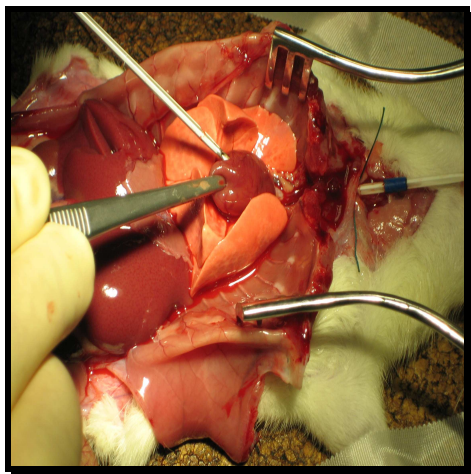
Das Diaphragma wurde bereits durchtrennt, um einen optimalen thorakalen Zugang zu gewährleisten. Die Beatmungskanüle liegt regelrecht und fixiert in der Trachea.

4.5.5. Klippen der großen Gefäßstämme und Kanülierung des Truncus pulmonalis

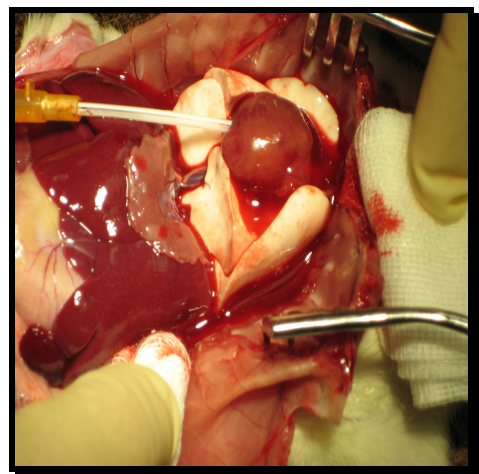
Die Vena cava superior dextra wurde dargestellt und kurz vor ihrer Einmündung ins Herz geklippt. Im Anschluss wurde die Vena cava superior sinistra unterhalb der Einmündung der Vena azygos ebenfalls geklippt.

Die Kanülierung des Truncus pulmonalis über den rechten Ventrikel wurde mit Hilfe einer Braunüle (Introcan®, 14 G, Firma Braun AG, Melsungen, Deutschland) realisiert, die sich schnell mit venösem Blut aus der rechten Herzkammer füllte. Über einen Dreivegehahn (Discofix®, Firma Braun AG, Melsungen, Deutschland) und eine Heidelberger Verlängerung (75cm, Firma Braun AG, Melsungen, Deutschland) erfolgte die Verbindung mit einer Einwegspritze (20ml, Firma Braun AG, Melsungen, Deutschland). Diese diente als Reservoir für die gekühlte Konservierungslösung.

Die Spritze befand sich in einem mit Eiswasser gefülltem Behältnis, das der optimalen Kühlung diente. Die Flushperfusion mit einem hydrostatischen Druck von 15 cm H₂O, war durch die Veränderung der Stativhöhe des Reservoirs einstellbar. Abschließend wurde die Vena cava inferior kurz nach ihrem Durchtritt durch das Diaphragma geklippt und das linke Atrium inzidiert. Es folgte die Blähung der Lunge unter druckkontrollierter Beatmung mit max. 30cm H₂O, bevor die Lunge mit 20 ml Konservierungslösung (entspricht 40-50 ml/kg KG) über den kanülierten Truncus pulmonalis geflusht wurde. Dabei wurde die genaue Uhrzeit protokolliert.



[Abb.4.5.5.a] Kanülierung des Truncus pulmonalis über den rechten Ventrikel



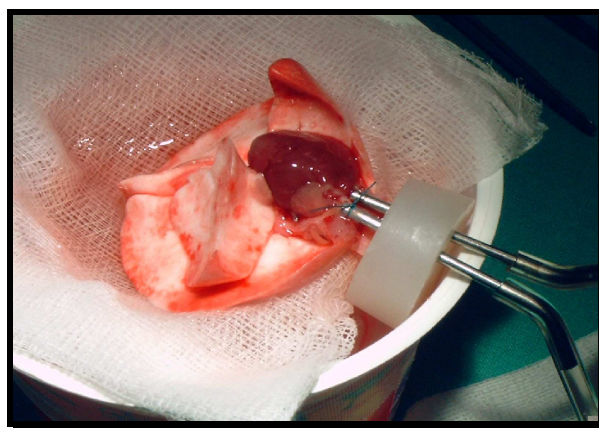
[Abb.4.5.5.b] Die Konservierungslösung läuft beim Flushmanöver über das linke Atrium ab

Der Beginn der Flushperfusion wurde als Beginn der Ischämiezeit definiert. Im Anschluss wurden Ösophagus und Vena cava inferior durchtrennt und das Herz-Lungen-Paket von der Thoraxhinterwand abgesetzt. Die Trachea wurde vorsichtig frei präpariert und anschließend die Trachealkanüle bis unterhalb der Tracheotomieöffnung zurückgezogen. Am Ende einer Inspirationsphase wurde ein Klipp auf die Luftröhre gesetzt und die somit statisch geblähte Lunge entnommen.

4.5.6. Kanülierung des Herz-Lungen-Pakets

Alle Herz-Lungen-Pakete wurden nach der Entnahme in einem mit der Konservierungslösung (Perfadex®) gefülltem Bechergefäß [Abb.4.5.6.], welches als Kühlzelle diente, weiter präpariert. Zunächst wurden Aorta sowie Arteria Pulmonalis herznah durchtrennt. Während die Aorta mit einem Klipp verschlossen wurde, erfolgte die Versorgung der Arteria pulmonalis durch eine Metallkanüle am rechten Kanülenblock. Mit Hilfe einer doppelten Ligatur (5-0 Mersilene®, Firma Ethicon, Norderstedt, Deutschland) wurde das Gefäß sicher fixiert. Die Kanüle wurde vorher mit der Konservierungslösung gespült und durch einen Dreiwegehahn mit stehender Flüssigkeitssäule luftleer verschlossen. Die geklippte Trachea wurde wiedereröffnet und in gleicher Art und Weise auf eine zweite Kanüle des Kanülenblockes aufgezogen und mit dem Respirator verbunden. In den linken Vorhof wurde eine frei endende Kanüle eingebracht und durch eine geknüpfte Naht gesichert.

Die auf dem Kanülierungsblock fixierten Lungen wurden anschließend während dreier Beatmungszyklen durch druckkontrollierte Beatmung (max. Druck 30 cmH₂O) wieder entfaltet. Danach wurden die Lungen unter einem Druck von 12 cm H₂O mit Luft gefüllt und durch das Abklemmen der trachealen Kanüle in diesem leicht geblähten Zustand belassen.



[Abb.4.5.6.] Über Trachea und Arteria pulmonalis kanüliertes Herz-Lungen-Paket

4.5.7. Ischämiezeit

Die Lungen aller Versuchsgruppen wurden bei 10° C für 4 Stunden in Perfadex® Lösung gelagert. Für die Dauer der Ischämiephasen waren Trachea und Arteria pulmonalis dicht verschlossen.

4.6. Reperusionslösung

4.6.1. Gewinnung des Erythrozytenkonzentrates

Das zur Reperfusion hergestellte „reine Erythrozytenkonzentrat“ wurde aus Rinderblut gewonnen. Durch die mehrmalige Waschung und Aufarbeitung sowie die Erkenntnis der Uniformität aller Säugetiererythrozyten wurden immunologische Probleme verhindert.

Am Vortag eines Versuches wurde Vollblut direkt aus einem ausblutenden Tier im Schlachthof Jena in zwei mit Heparin (LIQUEMIN® N 25000, Firma Hoffman La Roche AG, 15000 IE/1000 ml) vorbehandelte Behälter abgefüllt. In einer mit Kühlakkus bestückten Isolierbox wurde das Blut unverzüglich zur weiteren Aufarbeitung in das Institut für Versuchstierkunde transportiert.

Im ersten Schritt wurde das Rinderblut mit Hilfe einer Zentrifuge (Megafuge 1.0 RS, Firma Heraeus®, Osterode Deutschland) für 10 Minuten bei 4°C und 4000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert und der Überstand anschließend mit einem Vakuumsauger abgetrennt.

Im zweiten Schritt folgten die Auffüllung der Zentrifugengefäße mit 0,9 % Kochsalzlösung (Firma, Braun, Melsungen, Deutschland) und die erneute Zentrifugation bei gleichen Einstellungen. Der Überstand wurde ebenfalls abgesaugt. Das gewonnene Erythrozytenkonzentrat wurde bis zum Versuchstag bei 10°C gelagert und vor der Verwendung ein drittes Mal mit 0,9 % Kochsalzlösung für 10 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde erneut abgesaugt.

Vor Versuchsbeginn wurde das Erythrozytenkonzentrat mit Krebs-Henseleit-Lösung versetzt (Menge EK in ml + 110 ml = Menge der benötigten Krebs-Henseleit-Lösung in ml). Dabei wurde der Hämatokrit des Gemisches auf 0,38-0,40 eingestellt. Die Kontrolle des Hämatokrit erfolgte durch Zentrifugation (Biofuge haemo, Firma Heraeus®, Osterode, Deutschland) bei 15000 Umdrehungen pro Minute für 5 Minuten.

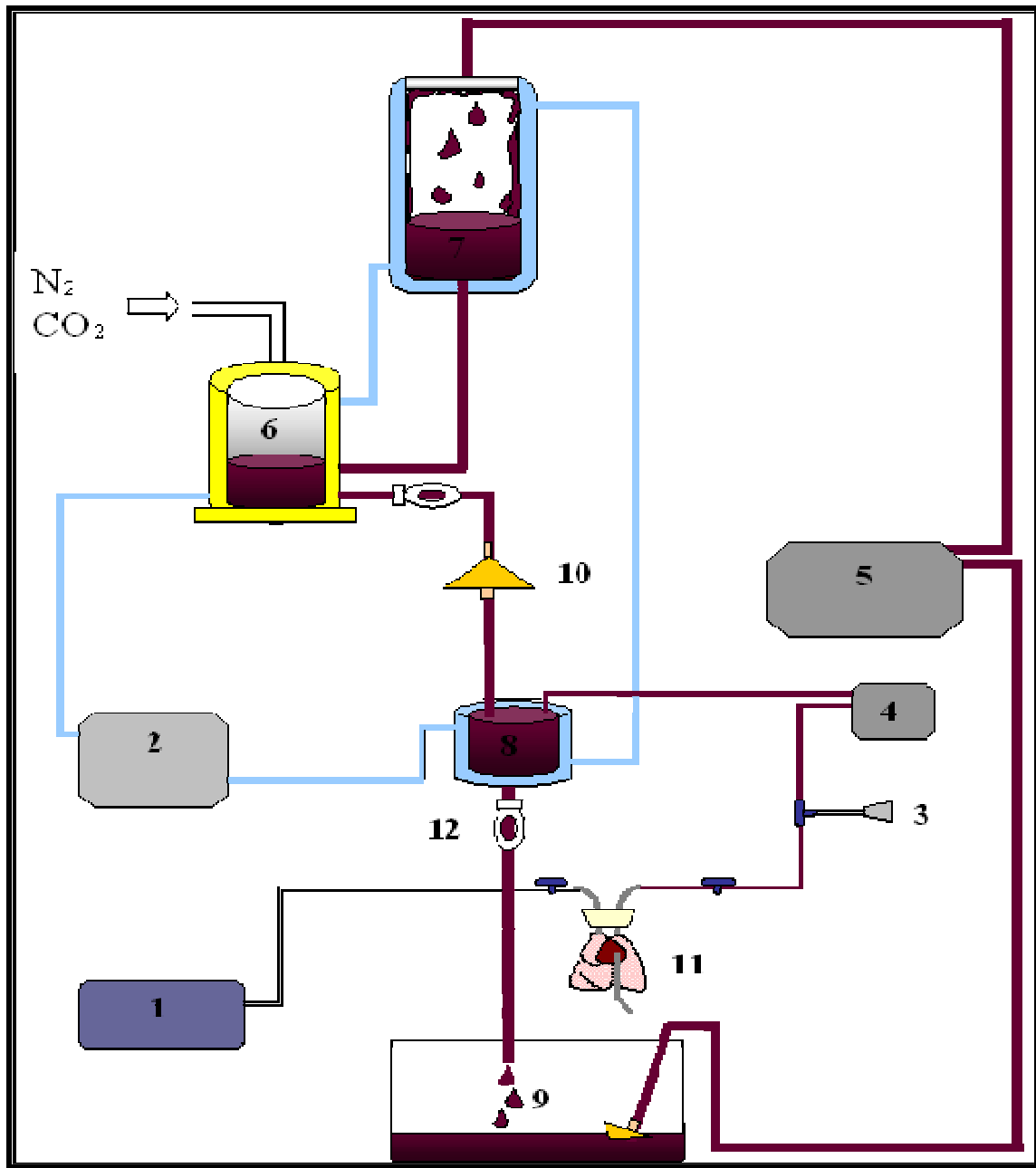
4.6.2. Die Krebs-Henseleit-Lösung

Die Zusammensetzung der verwendeten Lösung zeigt die nachfolgende Tabelle. Die Krebs-Henseleit-Lösung wurde am Vortag einer Versuchsreihe mit Aqua dest. frisch angesetzt und filtriert. Der pH-Wert wurde auf 7,42 eingestellt.

Komponenten	Anteil
NaCl	6,84 g
CaCl ₂ (1,0 M)	0,37 g
MgSO ₄ (0,1M)	0,17 g
KH ₂ PO ₄ (0,1 M)	0,16 g
NaHCO ₃	2,10 g
KCl (1,0 M)	0,30 g
Glucose	2,20 g

[Tab.4.6.2] Zusammensetzung der Krebs-Henseleit-Lösung pro 1000 ml

4.7. Modell der extrakorporalen Reperfusion



[Abb. 4.7.a] Schema des extrakorporalen Reperfusionsmodells [modifiziert nach Pech 2003]

- | | | |
|-----------------------|----------------------|----------------------|
| 1. Respirator | 5. Große Rollerpumpe | 9. Glaswanne |
| 2. Wärmepumpe | 6. Desoxygenator | 10. Leukozytenfilter |
| 3. Druckabnehmer | 7. Großer Kolben | 11. Lungenblock |
| 4. Kleine Rollerpumpe | 8. Sammelgefäß | 12. Klemme |

Die Reperfusion erfolgte in einem Versuchsaufbau, welcher sich aus einem „kleinen“ sowie einem „großen“ Kreislauf zusammensetzte. Beide Kreisläufe wurden in Serie geschaltet. Während der Reperfusion entsprach der „kleine“ Kreislauf dem Lungenkreislauf der Ratte in vivo. Der „große“ Kreislauf stellte den Körperkreislauf nach. In eine Glaswanne (9) wurde zunächst das Erythrozyten-Krebs-Henseleit-Gemisch gefüllt und der Hämatokrit ein zweites Mal kontrolliert. Durch eine große Rollerpumpe (5) (Multiflow Pumpe, Firma Stöckert, München, Deutschland) wurde das Reperfusionsgemisch über ein Schlauchsystem in ein Sammelgefäß (7) transportiert. Dieses Reservoir markierte den höchsten Punkt im „großen“ Kreislauf. In das Schlauchsystem wurde ein Leukozytenfilter zwischengeschaltet. Aus dem Sammelgefäß (7) gelangte das Blutgemisch aufgrund des hydrostatischen Druckes über einen Verbindungsschlauch in den Desoxygenator (6) (Module HILITE 7000, Hollow Fiber Oxygenator, Stolberg, Deutschland), in dem es mit Kohlendioxid (0,1 l/min) und Stickstoff (6-7 l/min) kontinuierlich begast wurde. Das nun desoxygenierte Blutgemisch lief über einen zweiten Leukozytenfilter in ein doppelwandiges, rundes Sammelgefäß (8). Aus diesem Gefäß wurde durch eine kleine Rollerpumpe (4) (Reglo-Digital-Kompaktpumpe, Typ MS 2/8, Firma Ismatec Laboratoriumstechnik, Werthheim, Deutschland) der „kleine“ Kreislauf gespeist und die Versuchslunge mit desoxygeniertem Reperfusat durchblutet.

Die Reperfusion der Rattenlungen begann mit einem Blutfluss von 1 ml/min. Dieser Fluss wurde minütlich um einen Milliliter gesteigert und nach sieben Minuten auf einer Rate von 8ml/min für die 50-minütige Reperfusionsphase konstant gehalten. In den „kleinen“ Kreislauf war ein Druckabnehmer (3) (Firma Braun AG, Melsungen, Deutschland) eingeschaltet. Dieser diente zur Messung des pulmonal-arteriellen Druckes (PAP). Das Blutgemisch gelangte schließlich über einen kleinen Schlauch, welcher mit der Pulmonalkanüle des Herz-Lungen-Blocks verbunden war, direkt in die Arteria pulmonalis (11). Es durchlief den Lungenkreislauf und trat über die implantierte Metallkanüle im linken Herzvorhof wieder aus. Über diese Kanüle wurden die Proben für serielle Blutgasanalysen entnommen.



[Abb.4.7.b] Reperfundierte Lunge im extrakorporalen Kreislauf

Über die zweite Kanüle am Herz-Lungen-Block, die mit der Trachea fest verbunden war, konnte eine kontinuierliche Beatmung über den Kleintierrespirator erfolgen. Dabei wurden die gleichen Ventilationsparameter wie bei der Präparation verwendet (5ml/Atemzug, Frequenz 40/min, Inspirationszeit 0,5 s; PEEP 3cm H₂O; PIP 12-14 cm H₂O).

Mit Hilfe einer Warmwasserpumpe (2) (Lauda-Kompaktthermostat, Typ M3B, Firma Lauda Dr. Wobser GmbH & Co KG, Königshofen, Deutschland) wurde über ein Schlauchsystem, das Desoxygenator (6) und kleines Sammelgefäß (8) verband, ein Wärmekreislauf aufrechterhalten. Das Blutgemisch wurde auf 37°C erwärmt. Die Temperatur wurde im kleinen Sammelgefäß (8) vor Eintritt in die Lungenstrombahn kontinuierlich gemessen.

4.8. Fixierung der Lungenpräparate

In allen Reperfusiongruppen wurde im Anschluss an die letzte Blutgasanalyse der Blutfluss im „kleinen“ Kreislauf zunächst auf 1,5 ml/min gesenkt und schließlich durch Diskonnektion der Pulmonalkanüle gänzlich unterbrochen. Die Lungen wurden makroskopisch beurteilt und hinsichtlich erkennbarer pathologischer Veränderungen wie Atelektasen, trachealen Ödemen und Unterblutungen protokolliert.

Die Beatmung wurde für drei Zyklen mit einem PIP von 12 cm H₂O fortgeführt, bevor die Trachealkanüle vom Beatmungsgerät abgeklemmt und luftdicht verschlossen wurde. Durch einen hilusnahen Klipp konnte die linke Lunge vom Block abgesetzt werden. Die Fixierung der rechten, mit 12 cm H₂O mäßig geblähten Lunge, erfolgte über die Pulmonalkanüle, welche über eine Heidelberger Verlängerung (Firma, Braun, Melsungen, Deutschland) mit einer 20 ml Reservoirspritze verbunden wurde. Mit einem hydrostatischen Druck von 15 cm H₂O wurde die Lungenstrombahn mit ca. 70 ml Fixierungslösung gespült. Gemessen und protokolliert wurde die Durchflusszeit der Lösung.

Anschließend konnte nach Klippen von Gefäßen und Luftwegen das Herz abgesetzt werden. Die Lungen wurden in einem mit Fixierungslösung gefülltem Tube (Braun, Melsungen, Deutschland) bis zu ihrem Versand an das Zentrum für Elektronenmikroskopie der Universität Göttingen bei 10°C gelagert.

Die Fixierungslösung wurde von der Apotheke der Friedrich-Schiller-Universität Jena angesetzt und bestand aus 0,2 M HEPES-Lösung, 4 % Formaldehyd sowie 0,1 % Glutardialdehyd. Die Osmolarität betrug 300 mosmol/l bei einem pH-Wert von 7,35.

4.9. Funktionelle Zielparameter

Für jedes Versuchstier wurden auf einem standardisierten Protokoll die Gruppenzugehörigkeit, das Gewicht, Geschlecht, Präparationsdatum und die Zeiten für Präparation und Ischämie vermerkt. Die Flushzeit, innerhalb der 20 ml Konservierungslösung die Lungenstrombahn vollständig durchströmen, wurde ebenfalls für alle Versuche kontrolliert. Bevor die 50-minütige Reperfusion begann, wurde für jedes Reperfusat eine Blutgasanalyse sowie eine Hämatokritbestimmung durchgeführt. Abweichende Werte wurden gegebenenfalls korrigiert. Als Zielwerte waren definiert: **PCO₂**: 38-42 mmHg; **PO₂**: 3-8 mmHg; **BE**: -3 bis +1.

Während der Reperfusionsperiode wurden alle zehn Minuten Parameter der Respiration, der Hämodynamik und der Gasaustauschfunktion bestimmt.

4.9.1. Parameter der Respiration

Der **pulmonal-inspiratorische Spitzendruck (PIP)** wurde kontinuierlich durch einen in das Beatmungsgerät (Kleintierrespirator: SAR 830/ P, Firma IITC INC. Life Science Instruments, Woodland Hills CA USA) integrierten Drucksensor aufgezeichnet und digital über den verwendeten Überwachungsmonitor (Virida 24 CT, Firma Hewlett-Packard, Böblingen Deutschland) wiedergegeben.

4.9.2. Parameter der Gasaustauschfunktion

Die Gasaustauschfunktion wurde mit Hilfe einer venösen (Probe aus dem kleinen Sammelgefäß **8**) und arteriellen (Probe direkt aus Kanüle im linken Atrium **11**) [Abb. 4.7.a] Blutgasbestimmung beurteilt. Mit dem Blutgasanalysegerät (ABL 715, Firma Radiometer-Copenhagen, Willich, Deutschland) erfolgte die Messung der Sauerstoff- und Kohlendioxidpartialdrücke (**PdOxO₂**, **PoxO₂**; **PdOxCO₂**, **PoxCO₂**) sowie der pH-Werte. Durch die Berechnung der **absoluten Oxygenierungskapazität (OXabs)** nach der Formel in [Abb.4.9.2.], wurde die Gasaustauschfunktion jeder reperfundierten Lunge bewertet.

$$OXabs = PoxO_2 - PdoxO_2$$

[Abb.4.9.2.] Absolute Oxygenierungskapazität [mmHg]

PoxO₂: Sauerstoffpartialdruck des oxygenierten Blutes [mmHg]

PdOxO₂: Sauerstoffpartialdruck des desoxygenierten Blutes [mmHg]

4.9.3. Parameter der Hämodynamik

Die Messung des **mittleren pulmonal-arteriellen Drucks (mPAP [mmHg])** erfolgte über einen in den „kleinen“ Kreislauf eingeschalteten Druckabnehmer [Abb. 4.7.a] (Statham, Fa. PVB Medizintechnik, Deutschland). Die Druckwerte wurden auf einem Überwachungsmonitor (Virida 24 CT, Firma Hewlett-Packard, Böblingen Deutschland) dargestellt und in 10-minütigen Abständen protokolliert. Die **Lungenperfusionsrate ($flow_L$ [ml/ min])** wurde durch die pro Minute aus der linken Vorhofkanüle austretende Blutmenge bestimmt. Aus diesen beiden Größen und dem konstanten **linksatrialen Druck (LAP [mmHg])** wurde nach der Formel in [Abb. 4.9.3] der **pulmonal-vaskuläre Widerstand (PVR [dynes*sec*cm⁻⁵])** berechnet.

$$PVR = \frac{(mPAP - LAP) * 80}{flow_L}$$

[Abb.4.9.3.] Pulmonal-vaskulärer Widerstand PVR [dynes*sec*cm⁻⁵]

mPAP: mittlerer pulmonal- arterieller-Druck [mmHg]

LAP: linksatrialer Druck [mmHg]

$flow_L$: Lungenperfusionsrate [ml/min]

4.10. Stereologische Ödemquantifizierung

Die stereologische Analyse der Lungenpräparate erfolgte am Anatomischen Institut der Universität Göttingen unter der Leitung von Prof. Dr. Ochs und Dr. Mühlfeld. Die mit 4 % Paraformaldehyd und 0,1 % Glutaraldehyd in 0.2M Hepes-Puffer perfusions-fixierten und gekühlten Präparate wurden auf dem Postweg versandt. Um Proben für die mikroskopische Analyse der Lungen zu gewinnen, die repräsentativ für das gesamte Organ sind, wurden randomisierte Probeentnahmen nach dem Prinzip des „systematic uniform random sampling“ (Weibel et al. 2007) durchgeführt. Die Lungen wurden zunächst in 1,4 mm dicke Scheiben geschnitten. Anschließend wurde, beginnend mit einer zufälligen Zahl zwischen 1 und 3, jede dritte Scheibe für die weitere Verarbeitung ausgewählt. Die ausgewählten Scheiben wurden zunächst für weitere 24 Stunden im Fixierungsgemisch gelagert, mit Puffer gewaschen, nachfixiert mit Osmiumtetroxid und Uranylacetat, in einer aufsteigenden Acetonreihe dehydriert und schließlich in Glycol Methacrylat eingebettet (Technovit 7100, Kulzer,

Heraeus, Germany) Von den eingebetteten Gewebelöckchen wurden 1 µm dicke Schnitte angefertigt und mit Methylenblau angefärbt. Die stereologische Analyse des Volumenanteils von intraalveolärem Ödem und intraalveolären Erythrozyten als Maß für eine Erhöhung der Permeabilität und damit für eine Schädigung der Blut-Luft-Schranke wurde mit Hilfe des Cast Grid Systems v 2.0 (Olympus, Denmark) ermittelt. (Fehrenbach und Ochs, 1998). Testfelder wurden bei einer Primärvergrößerung von 10 x mittels „systematic uniform random sampling“ gewonnen. Über jedes Testfeld wurde ein transparentes Punkteraster gelegt und es wurden Punkte gezählt, die auf intraalveoläres Ödem, intraalveoläre Erythrozyten oder den Rest der Lunge fielen. Aus diesen Punkten ließ sich der Volumenanteil, z. B. des intraalveolären Ödems, an der Lunge ($V_V(\ddot{O}d/ L)$) wie folgt berechnen:

$$V_V(\ddot{O}d/ L) = P(\ddot{O}d) / P(Ges)$$

[Abb.4.10.] Volumenanteil des intraalveolären Ödems an der Lunge

$P(\ddot{O}d)$: die Summe der Punkte, die in einer Lunge auf intraalveoläres Ödem gefallen sind

$P(Ges)$: die Summe aller Punkte die gezählt wurden

4.11. Statistische Verfahren

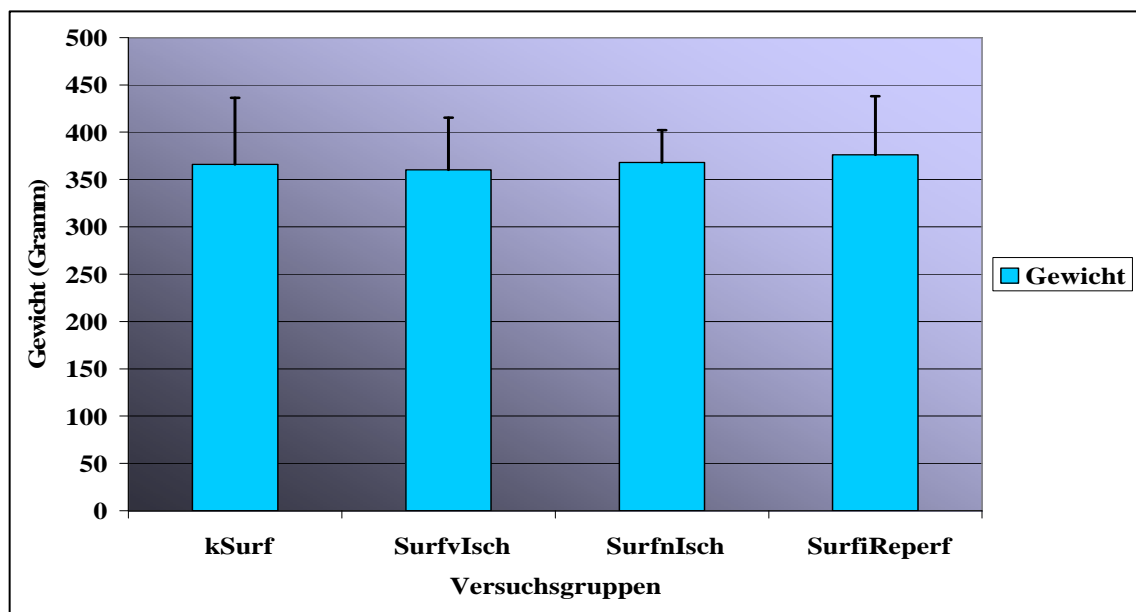
Die statistische Auswertung erfolgte unter Verwendung des Programms SPSS [SPSS für Windows, Version 10.0, Birmingham, USA]. Die Analyse wurde in Zusammenarbeit mit dem Institut für Medizinische Statistik, Informatik und Dokumentation der Friedrich-Schiller-Universität Jena unter der Betreuung von Herrn Dr. Vollandt durchgeführt.

Die numerische sowie graphische Darstellung aller Messwerte erfolgte als Mittelwert (M) ± Standardabweichung (SD). Die Auswertung von einfachen Variablen, die über den Versuchsablauf konstant waren, wurde mittels einfaktorieller ANOVA Analyse durchgeführt. Bei Messwerten, die über die Zeit nicht konstant waren, wurde der Mittelwert (jeweils fünf im zehnminütigen Abstand) berechnet und anschließend ebenfalls eine einfaktorielle ANOVA Analyse durchgeführt. Zum Vergleich der Gruppen untereinander erfolgte eine post-hoc Analyse. Ergab die Prüfung mittels Levene-Test eine Varianzhomogenität [$p > 0,05$], wurde mit dem Tukey-B-Test die post-hoc Analyse durchgeführt. Bei Varianzheterogenität [$p < 0,05$] erfolgte die post-hoc Analyse mit dem Tamhane-Test. Die statistische Auswertung der stereologischen Daten erfolgte mit Kruskal-Wallis ANOVA und bei [$p < 0,05$] anschließend der Student-Newman-Keuls Test, als multipler Vergleichstest. Das Signifikanzniveau wurde bei allen Tests auf [$p < 0,05$] festgelegt.

5. Ergebnisse

5.1. Tiergewichte

Die Versuchstiere hatten ein mittleres Gewicht von $367,5 \pm 50,88$ Gramm. Das Körpergewicht der Tiere war in den Gruppen untereinander vergleichbar und zeigte keine signifikanten Unterschiede [Abb. 5.1.] und [Tab. 5.1.].



Tiergewichte (Gramm)	Gruppe 1 kSurf	Gruppe 2 SurfvIsch	Gruppe 3 SurfnIsch	Gruppe 4 SurfiReperf
	366 ± 70,21	360 ± 55,93	368 ± 34,21	376 ± 61,89

[Abb.5.1.] Mittleres Gewichte der Versuchstiere (Gramm)

kSurf= kein Surfactant (Kontrolle), SurfvIsch= Surfactant vor Ischämie

SurfnIsch= Surfactant nach Ischämie, SurfiReperf= Surfactant nach 20 min Reperfusion

Gruppenvergleich	Signifikanzniveau (p)
Gruppe 1 vs. Gruppe 2	1.0
Gruppe 1 vs. Gruppe 3	1.0
Gruppe 1 vs. Gruppe 4	1.0
Gruppe 2 vs. Gruppe 3	1,0
Gruppe 2 vs. Gruppe 4	0.999
Gruppe 3 vs. Gruppe 4	1.0

[Tab.5.1.] Gruppenvergleich der Tiergewichte

Gruppenvergleich mit ANOVA, post-hoc-Test; Tamhane

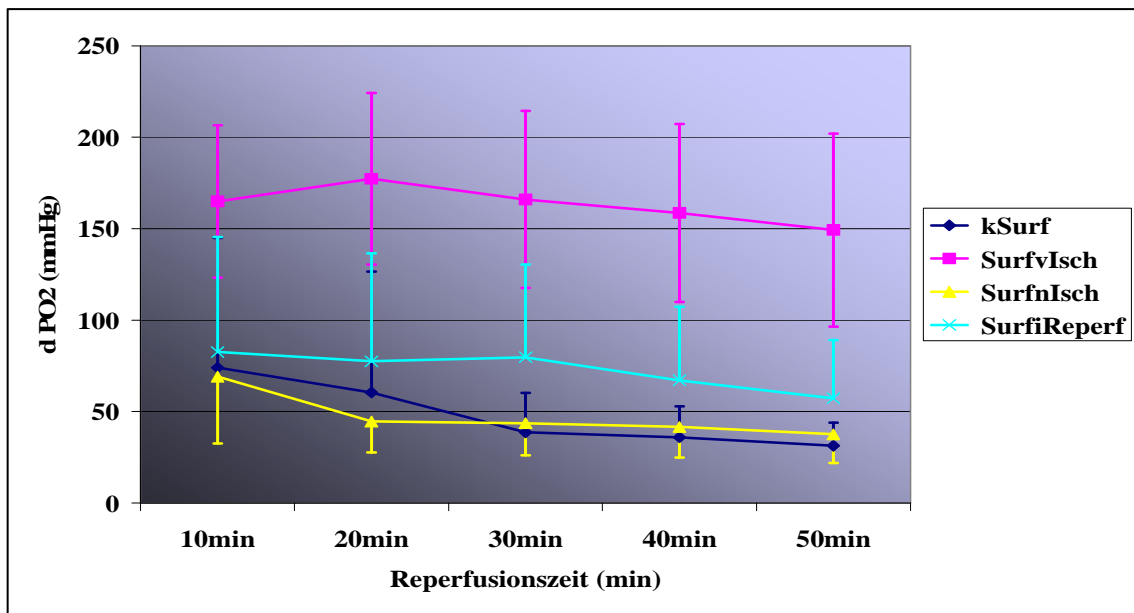
Gruppe 1= kein Surfactant (Kontrolle), Gruppe 2= Surfactant vor Ischämie;

Gruppe 3= Surfactant nach Ischämie, Gruppe 4= Surfactant nach 20 min Reperfusion

5.2. Funktionelle Parameter des extrakorporalen Reperusionsmodells

5.2.1. Absolute Oxygenierungskapazität (AOC)

Nach einer definierten Ischämiezeit von 240 Minuten, konnten hinsichtlich der absoluten Oxygenierungskapazität, nur die Lungen aus Gruppe 2 (**SurfvIsch**) überzeugen [Abb.5.2.1.]. Im direkten Vergleich mit den übrigen Testgruppen zeigten diese Lungen signifikant bis hochsignifikant bessere Oxygenierungsergebnisse.



[Abb.5.2.1.] Absolute Oxygenierungskapazität AOC (dPO₂)

kSurf= kein Surfactant (Kontrolle), SurfvIsch= Surfactant vor Ischämie

SurfnIsch= Surfactant nach Ischämie, SurfiReperf= Surfactant nach 20 min Reperfusion

Gruppenvergleich	Signifikanzniveau (p) für jeden Messzeitpunkt (min)				
	10	20	30	40	50
Gruppe 1 vs. Gruppe 2	0,079	0,011	0,013	0,002	0,002
Gruppe 1 vs. Gruppe 3	0,999	0,959	1,000	0,996	0,994
Gruppe 1 vs. Gruppe 4	0,994	0,950	0,640	0,636	0,733
Gruppe 2 vs. Gruppe 3	0,061	0,004	0,018	0,001	0,001
Gruppe 2 vs. Gruppe 4	0,123	0,031	0,141	0,005	0,004
Gruppe 3 vs. Gruppe 4	0,980	0,738	0,724	0,675	0,801

[Tab.5.2.1.] Absolute Oxygenierungskapazität (AOC)

Gruppenvergleich mit ANOVA, post-hoc-Test; Zeitpunkt 10,20,40,50 min.; Tukey-B-Test/ Zeitpunkt 30 min.; Tamhane

Gruppe 1= kein Surfactant (Kontrolle), Gruppe 2= Surfactant vor Ischämie;

Gruppe 3= Surfactant nach Ischämie, Gruppe 4= Surfactant nach 20 min Reperfusion

Wie aus Tabelle [5.2.1.] ersichtlich, waren die Lungen der Versuchsgruppe **2 (SurfvIsch)** den übrigen Gruppen hinsichtlich der absoluten Oxygenierungskapazität ab 20 Minuten Reperfusionzeit klar überlegen. Im Vergleich mit der Kontrollgruppe **1 (kSurf)** zeigte sich nach 20 Minuten ein signifikanter Unterschied der AOC mit $p=0,011$, der nach 30 Minuten bei $p=0,013$ lag und zu den Messzeitpunkten 40 und 50 Minuten mit $p=0,002$ hochsignifikant war.

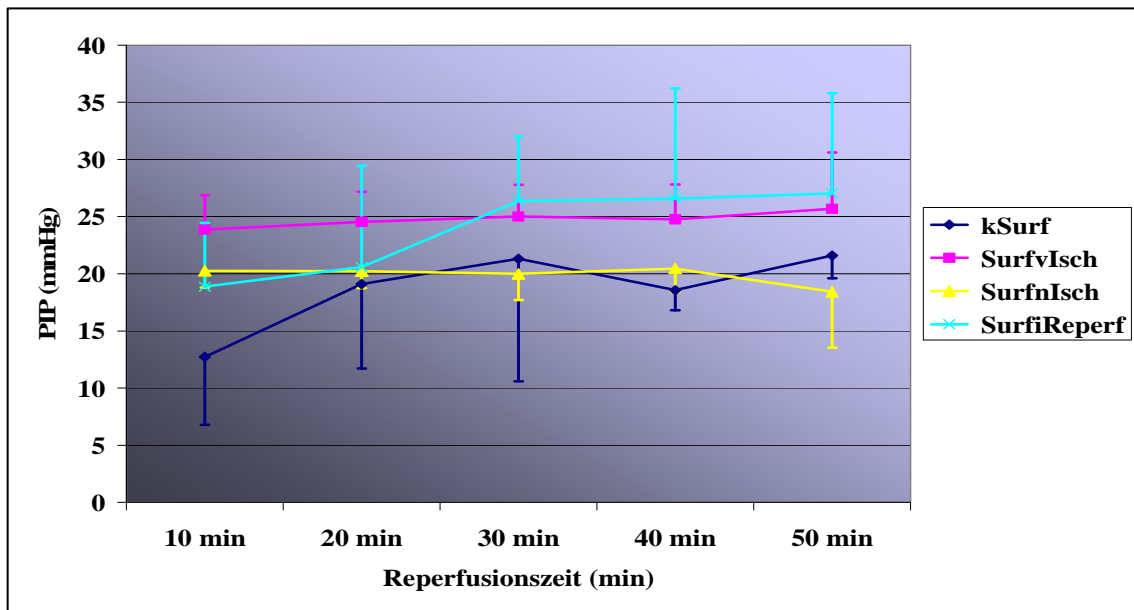
Gegenüber Gruppe **3 (SurfnIsch)** war die bessere Oxygenierungsleistung nach 20 Minuten mit $p=0,004$ hochsignifikant, ebenso nach 40 und 50 Minuten mit jeweils $p=0,001$. Nach 30 Minuten Reperfusionzeit war die AOC mit $p=0,018$ signifikant höher. Der Vergleich mit Versuchsgruppe **4 (SurfiReperf)** ergab eine signifikant bessere Oxygenierungsfunktion in Gruppe **2 (SurfvIsch)** mit $p=0,031$ nach 20 Minuten, und hochsignifikante Ergebnisunterschiede nach 40 Minuten mit $p=0,005$ und 50 Minuten mit $p=0,004$. Die Gruppen **1 (kSurf)**, **3 (SurfnIsch)** und **4 (SurfiReperf)** zeigten bei etwa gleichwertigen Oxygenierungsergebnissen keine statistisch signifikanten Unterschiede beim Vergleich ihrer absoluten Oxygenierungskapazität ($p>0,05$).

In Gruppe **1 (kSurf)** wurde zu Beginn der Reperfusionphase ein Wert von $74,02 \pm 70,86$ mmHg ermittelt, der vor allem nach 20 Minuten stark abfiel und am Ende der Reperfusionzeit nur $31,40 \pm 12,48$ mmHg betrug. In Gruppe **2 (SurfvReperf)** lagen die Werte zu Beginn im Mittel bei $164,94 \pm 41,65$ mmHg. Nach 50 Minuten Reperfusion bei $149,26 \pm 52,73$ mmHg. Auch in den Gruppen **3 (SurfnIsch)** und **4 (SurfiReperf)** war ein stetiger Abfall der Oxygenierungskapazitäten von Anfangs $69,14 \pm 36,56$ mmHg und $82,60 \pm 62,92$ mmHg, auf $37,60 \pm 15,71$ mmHg bzw. $57,30 \pm 31,80$ mmHg am Ende der Messperiode erkennbar [Tab. 7.1.1.].

Die Veränderungen der ermittelten Parameter (AOC) innerhalb einer jeden Versuchsgruppe, erreichten über die Reperfusionzeit bei keiner Gruppe ein signifikantes Niveau ($p>0,05$).

5.2.2. Pulmonal-inspiratorischer Spitzendruck (PIP)

Die gemessenen pulmonal-inspiratorischen Spitzendrücke (PIP) zeigten nur zu Beginn zwischen Gruppe **1 (kSurf)** und Gruppe **2 (SurfvIsch)** einen deutlichen Unterschied, der sich aber im Verlauf der Messperiode wieder aufhob. Innerhalb der Testgruppen **2 (SurfvIsch)** und **3 (SurfnIsch)** ergab sich ein weitestgehend stabiles Niveau des pulmonal-inspiratorischen Spitzendrucks, während in den Gruppen **1 (kSurf)** und **4 (SurfiReperf)** deutlichere Veränderungen der Druckwerte im zeitlichen Verlauf zu erkennen waren.



[Abb.5.2.2.] Pulmonal-inspiratorischer Spitzendruck PIP

kSurf= kein Surfactant (Kontrolle), SurfvIsch= Surfactant vor Ischämie

SurfnIsch= Surfactant nach Ischämie, SurfiReperf= Surfactant nach 20 min Reperfusion

Gruppenvergleich	Signifikanzniveau (p) für jeden Messzeitpunkt (min)				
	10	20	30	40	50
Gruppe 1 vs. Gruppe 2	0,005	0,491	0,991	0,061	0,632
Gruppe 1 vs. Gruppe 3	0,067	0,990	1,000	0,805	0,821
Gruppe 1 vs. Gruppe 4	0,165	0,979	0,968	0,586	0,811
Gruppe 2 vs. Gruppe 3	0,581	0,668	0,078	0,203	0,254
Gruppe 2 vs. Gruppe 4	0,312	0,722	0,998	0,999	1,000
Gruppe 3 vs. Gruppe 4	0,957	1,000	0,326	0,793	0,470

[Tab.5.2.2.] Pulmonal-inspiratorischer Spitzendruck (PIP)

Gruppenvergleich mit ANOVA, post-hoc-Test; Zeitpunkt 10- 20 min.; Tukey-B-Test/
Zeitpunkt 30- 50 min.; Tamhane

Gruppe 1= kein Surfactant (Kontrolle), Gruppe 2= Surfactant vor Ischämie;

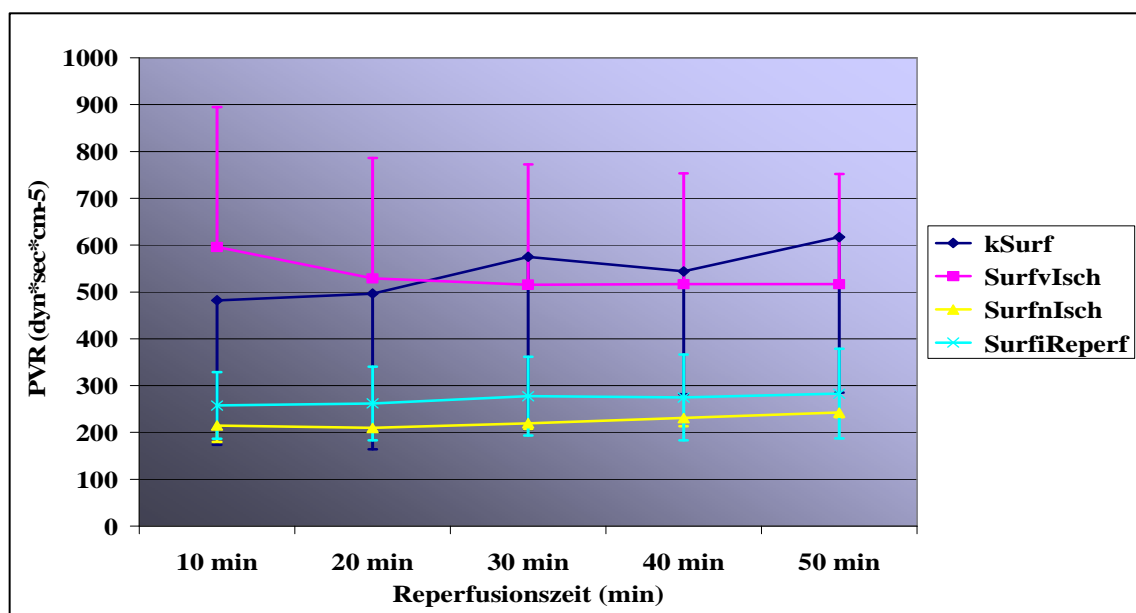
Gruppe 3= Surfactant nach Ischämie, Gruppe 4= Surfactant nach 20 min Reperfusion

Nach 10 Minuten Reperfusion zeigte sich in Gruppe 1 (**kSurf**) ein hoch signifikant niedrigerer **PIP** mit $p= 0,005$ gegenüber der Gruppe 2 (**SurfvIsch**). Im weiteren Versuchsablauf ergaben sich zwischen den Testgruppen keine signifikanten Druckwertunterschiede [Tab. 7.1.2.]. Innerhalb der Gruppe 1 (**kSurf**) stieg der mittlere Wert des **PIP** von $12,72 \pm 5,93$ nach 10 Minuten Reperfusion bis auf einen Mittelwert von $21,58 \pm$

1,98 nach 50 Minuten Reperfusion. Dieser Anstieg entspricht einem hohen Signifikanzniveau mit $p= 0,01$. In Gruppe **2 (SurfvIsch)** wurden über den Versuchszeitraum zu jedem Messzeitpunkt nahezu gleiche Werte, mit $23,86 \pm 3,00$ mmHg nach 10 Minuten und $25,68 \pm 4,93$ mmHg nach 50 Minuten, gemessen. In Gruppe **3 (SurfnIsch)** sanken die Druckwerte minimal von Anfangs $20,25 \pm 1,46$ mmHg auf $18,41 \pm 4,89$ mmHg am Ende der Reperfusionsphase. Eine statistische Signifikanz wurde auch hier nicht erreicht. Durch die endotracheale Instillation von Surfactant nach 20 Minuten Reperfusion in Gruppe **4 (SurfiReperf)** stiegen die Messwerte von Anfangs $18,86 \pm 5,60$ mmHg, auf die mit $27,04 \pm 8,74$ mmHg, höchsten Druckwerte aller Versuchsgruppen nach 50 Minuten. Ein statistisch signifikantes Niveau ergab sich bei diesem Anstieg dennoch nicht.

5.2.3. Pulmonal-vaskulärer Widerstand (PVR)

Bei der Beurteilung der Lungengefäßwiderstände fielen deutliche Unterschiede zwischen den Gruppen auf [Tab. 7.1.3]. Dennoch konnten aufgrund der hohen Varianzen, vor allem in den Gruppen **1 (kSurf)**, **2 (SurfvIsch)** und **4 (SurfiReperf)**, keine statistisch signifikanten Unterschiede ermittelt werden [Tab. 5.2.3.].



[Abb.5.2.3.] Pulmonal-vaskulärer Widerstand PVR

kSurf= kein Surfactant (Kontrolle), SurfvIsch= Surfactant vor Ischämie

SurfnIsch= Surfactant nach Ischämie, SurfiReperf= Surfactant nach 20 min Reperfusion

Gruppenvergleich	Signifikanzniveau (p) für jeden Messzeitpunkt (min)				
	10	20	30	40	50
Gruppe 1 vs. Gruppe 2	0,994	1,000	1,000	1,000	0,999
Gruppe 1 vs. Gruppe 3	0,550	0,554	0,621	0,682	0,717
Gruppe 1 vs. Gruppe 4	0,698	0,722	0,747	0,760	0,773
Gruppe 2 vs. Gruppe 3	0,245	0,266	0,317	0,284	0,310
Gruppe 2 vs. Gruppe 4	0,324	0,395	0,496	0,414	0,440
Gruppe 3 vs. Gruppe 4	0,852	0,763	0,737	0,924	0,953

[Tab.5.2.3.] Pulmonal-vaskulärer Widerstand (PVR)

Gruppenvergleich mit ANOVA, post-hoc-Test; Zeitpunkt 10-50 min; Tamhane

Gruppe 1= kein Surfactant (Kontrolle), Gruppe 2= Surfactant vor Ischämie;

Gruppe 3= Surfactant nach Ischämie, Gruppe 4= Surfactant nach 20 min Reperfusion

Der pulmonal-vaskuläre Widerstand stieg in den Gruppen **1 (kSurf)**, **3 (SurfnIsch)** und **4 (SurfiReperf)** kontinuierlich über den Beobachtungszeitraum an. Der höchste mittlere pulmonal-vaskuläre Widerstand wurde in Gruppen **1 (kSurf)** mit $617,33 \pm 331,94 \text{ dyn} \cdot \text{sec} \cdot \text{cm}^{-5}$ nach 50 Minuten Reperfusion erreicht, während der Widerstand in Gruppe **3 (SurfnIsch)**, mit $242,54 \pm 10,25 \text{ dyn} \cdot \text{sec} \cdot \text{cm}^{-5}$ zu diesem Zeitpunkt am niedrigsten war.

In Gruppe **2 (SurfvIsch)** fiel der mittlere Wert des PVR stetig von $595,93 \pm 298,88 \text{ dyn} \cdot \text{sec} \cdot \text{cm}^{-5}$ nach 10 Minuten Messzeit, auf $516,45 \pm 235,39 \text{ dyn} \cdot \text{sec} \cdot \text{cm}^{-5}$ am Ende der Reperfusion ab.

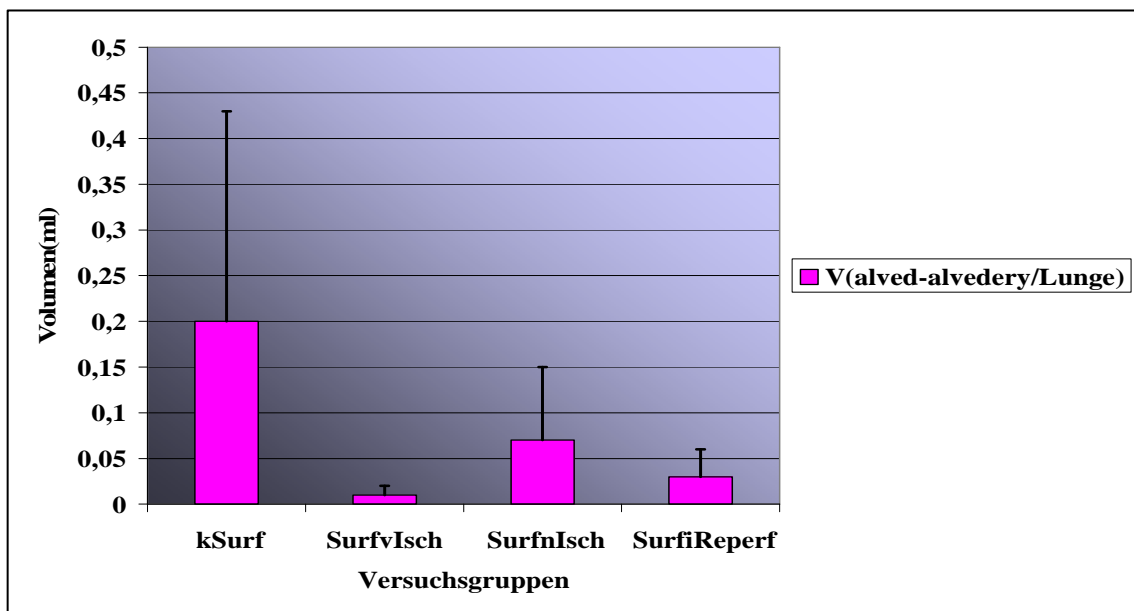
Aufgrund der hohen Varianz der Messwerte innerhalb der Gruppen **2 (SurfvIsch)**, **1 (kSurf)** und **4 (SurfiReperf)** wurde beim Vergleich der Gruppen untereinander kein statistisch signifikantes Niveau erreicht. Auffällig waren in Gruppe **3 (SurfnIsch)** die geringen Standardabweichungen vom Mittelwert zu jedem Messzeitpunkt. Die Verläufe der Druckwerte innerhalb jeder Gruppe waren moderat und zeigten in der statistischen Analyse keine signifikanten Unterschiede.

5.3. Lichtmikroskopisch-stereologische Auswertung

In der lichtmikroskopischen Auswertung zeigten die Gewebeproben aller Gruppen nur vereinzelt atelektatische Bezirke. Die pulmonalen Blutgefäße waren weitestgehend frei von Erythrozyten und in einem guten Konservierungszustand.

Die feingeweblichen Proben der Gruppen **2 (SurfvIsch)**, **3 (SurfnIsch)** und **4 (SurfiReperf)** zeigten im Vergleich zur Kontrollgruppen **1 (kSurf)** reichlich Surfactant in ihren Alveolen. Das Ausmaß der ultrastrukturellen Schädigung durch Ischämie und Reperfusion unterschied sich zwischen den Gruppen und wurde durch die Arbeitsgruppe um Prof. Dr. Ochs und Dr. Mühlfeld stereologisch quantifiziert. Die lichtmikroskopischen Abbildungen [5.3.b-e] unterstreichen diese Ergebnisse.

Die totalen Lungenvolumina waren in allen Versuchsgruppen annähernd gleich [Tab. 7.1.4.]. Die Volumenanteile von Ödem **V (alved/Lunge) [ml]** sowie intraalveolärer Erythrozyten **V (alvedery/Lunge) [ml]** wurden als Einzelparameter und in ihrer Kombination **V (alved-alvedery/Lunge) [ml]** [Abb.5.3.] in Hinblick auf das Gesamtlungenvolumen **V (Lunge) [ml]** analysiert und interpretiert [Tab.7.1.4.].



[Abb.5.3.a] Alveolärer Ödem- und Erythrozytenanteil am Gesamtlungenvolumen

kSurf= kein Surfactant (Kontrolle), SurfvIsch= Surfactant vor Ischämie

SurfnIsch= Surfactant nach Ischämie, SurfiReperf= Surfactant nach 20 min Reperfusion

Die Kontrollgruppe **1 (kSurf)** zeigte eine starke, intraalveoläre Flüssigkeits- und Erythrozytenanreicherung mit **V (alved-alvedery/Lunge)** von $0,20\text{ml} \pm 0,23\text{ml}$. Während dieser Parameter in den Gruppen **3 (SurfnIsch)** ($0,07\text{ml} \pm 0,08\text{ml}$) und **4(SurfiReperf)** ($0,03\text{ml} \pm 0,03\text{ml}$) für eine mittelgradige Ödemformation spricht, zeigt sich in Versuchsgruppe **2 (SurfvIsch)** ($0,01\text{ml} \pm 0,01\text{ml}$) die geringste intraalveoläre Volumen-anreicherung. Die statistische Analyse, dargestellt in der nachfolgenden Tabelle [Tab. 5.3.], zeigt vor allem beim Vergleich der **Gruppe 2 (SurfvIsch)** mit den Gruppen **1 (kSurf)**, **3 (SurfnIsch)** und **4 (SurfiReperf)** statistische signifikante Unterschiede mit

$p < 0,05$. Kein statistisch signifikantes Niveau wurde beim Vergleich zwischen den Gruppen **1** (kSurf), **3** (SurfnIsch) und **4** (SurfiReperf) erreicht ($p > 0,05$).

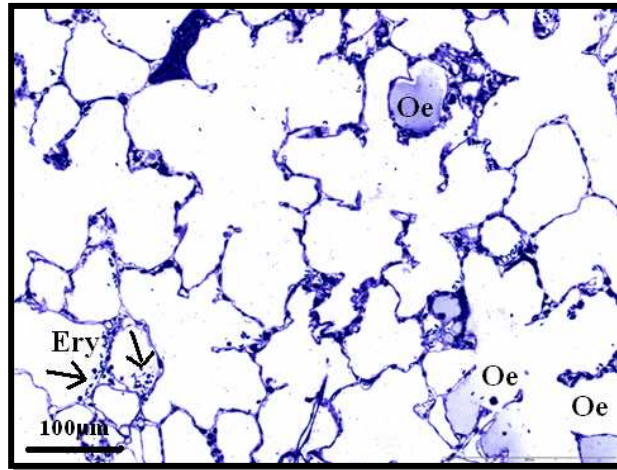
Gruppenvergleich	V (Lunge) [ml]	V (alvedery/Lunge) [ml]	V (alved- alvedery/Lunge)
Gruppe 1 vs. Gruppe 2	$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$
Gruppe 1 vs. Gruppe 3	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$
Gruppe 1 vs. Gruppe 4	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$
Gruppe 2 vs. Gruppe 3	$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$
Gruppe 2 vs. Gruppe 4	$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$
Gruppe 3 vs. Gruppe 4	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$

[Tab.5.3.] Gruppenvergleich der stereologischen Parameter

Kruskal- Wallis ANOVA und bei $p < 0,05$ anschließend Student- Newman- Keuls Test

Gruppe 1= kein Surfactant (Kontrolle), Gruppe 2= Surfactant vor Ischämie;

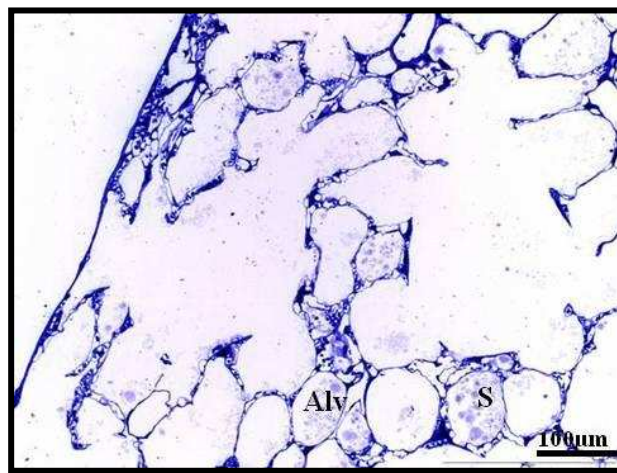
Gruppe 3= Surfactant nach Ischämie, Gruppe 4= Surfactant nach 20 min Reperfusion



[Abb. 5.3.b] Lichtmikroskopischer Schnitt einer Lunge aus Gruppe 1 (**kSurf**)

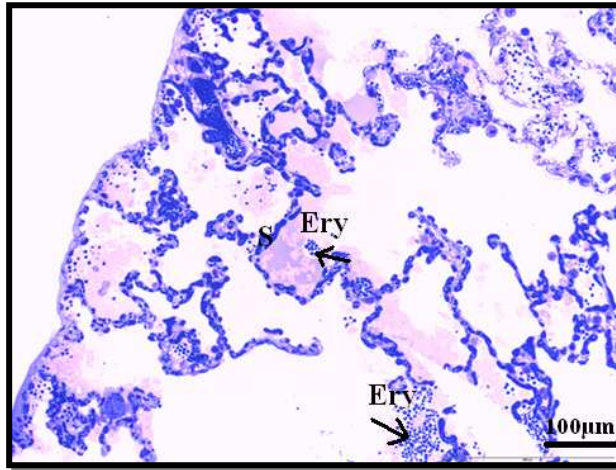
Deutlich sind flüssigkeitsgefüllte Alveolen zu erkennen. Im linken Bildausschnitt sind weiterhin intraalveoläre Erythrozyten zu sehen. Diese Tatsache erklärt die schlechte Oxygenierungskapazität während der extrakorporalen Reperfusion und entspricht den stereologischen Ergebnissen [Tab. 5.3.a].

Oe: alveoläres Ödem; **Ery:** intraalveoläre Erythrozyten (Pfeile), Lichtmikroskopisches Bild. Angefärbt mit Methylenblau. Bild mit freundlicher Genehmigung von Prof. Dr. Ochs und Dr. Mühlfeld, Anatomisches Institut, Universität Bern.



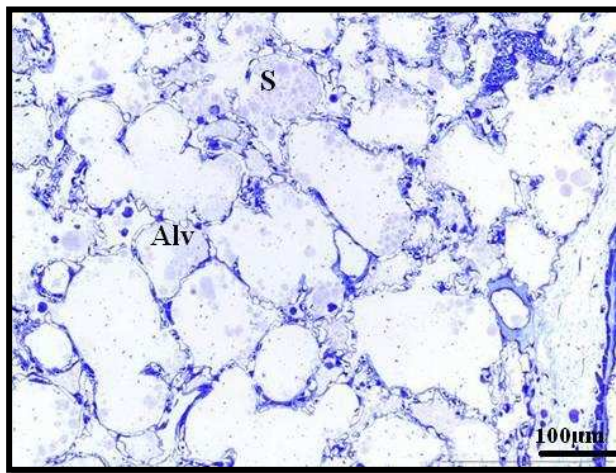
[Abb. 5.3.c] Lichtmikroskopischer Schnitt einer Lunge aus Gruppe 2 (**SurfvIsch**)

Das Parenchym zeigt in diesem Ausschnitt kein alveoläres Ödem oder die Extravasion von Erythrozyten und illustriert die Ergebnisse aus [Tab.7.1.4.]. Die Alveolen sind mit dem applizierten Surfactant gefüllt. **Alv:** Alveole; **S:** Surfactant. Lichtmikroskopisches Bild. Angefärbt mit Methylenblau. Bild mit freundlicher Genehmigung von Prof. Dr. Ochs und Dr. Mühlfeld, Anatomisches Institut, Universität Bern.



[Abb. 5.3.d] Lichtmikroskopischer Schnitt einer Lunge aus Gruppe **3 (SurfnIsch)**

Vor allem im unteren Bildabschnitt zeigt sich eine ausgeprägte Extravasation von Erythrozyten, was auch durch die stereologische Auswertung [Tab.7.1.4.] bestätigt wird. In den Alveolen findet sich das applizierte Surfactant. **S**: alveoläres Surfactant; **Ery**: Erythrozyten, die durch Extravasation in den Alveolen angereichert sind (Pfeile). Lichtmikroskopisches Bild. Angefärbt mit Methylenblau. Bild mit freundlicher Genehmigung von Prof. Dr. Ochs und Dr. Mühlfeld, Anatomisches Institut, Universität Bern.



[Abb. 5.3.d] Lichtmikroskopischer Schnitt einer Lunge aus Gruppe **4 (SurfiReperf)**

Die Alveolen zeigen sich mit Surfactant gefüllt. Alveoläres Ödem sowie Erythrozyten sind in diesem Bildausschnitt nicht zu erkennen Dieser Befund entspricht den stereologischen Ergebnissen aus [Tab.7.1.4.]. **S**: Surfactant; **Alv**: Alveole.

Lichtmikroskopisches Bild. Angefärbt mit Methylenblau. Bild mit freundlicher Genehmigung von Prof. Dr. Ochs und Dr. Mühlfeld, Anatomisches Institut, Universität Bern.

6. Diskussion

6.1. Diskussion der Methodik

6.1.1. Tiermodelle

In der präklinischen Forschung ist es wichtig, durch hohe Fallzahlen im Rahmen von Screeninguntersuchungen statistisch gesicherte Aussagen treffen zu können. Durch die Auswahl von männlichen Sprague-Dawley-Ratten eines Inzuchtstammes konnten bei relativ geringen Anschaffungs- und Haltungskosten genügend Experimente durchgeführt werden.

Die Forschung an Groß- und Kleintiermodellen liefert auf dem Gebiet der Lungentransplantation einen wesentlichen Beitrag für die Entwicklung und Anwendung neuer Konservierungslösungen und Adjuvantien mit dem Ziel einer späteren klinischen Anwendbarkeit.

6.1.2. Großtiermodelle

Für Großtierversuche werden vor allem Schweine, Primaten und Hunde verwendet. Oft dienen sie im Anschluss an Kleintierexperimente als weiterer Schritt auf dem Weg zur klinischen Etablierung neuer Therapieoptionen. Durch die anatomische und physiologische Nähe zum Menschen werden sehr oft Experimente an Schweinen bevorzugt. Die kombinierte Herz-Lungen-Transplantation gilt hier als anerkanntes Verfahren, bei der jedoch nicht außer Acht gelassen werden sollte, dass die gleichzeitige Herzverpflanzung die Ergebnisse der Lungenkonservierung durch ineffiziente Herzkonservierung und postoperative myokardiale Funktionsstörungen erheblich verfälschen kann (Kirk et al., 1993). Die Doppellungentransplantation wäre ein besserer Ansatz zur Beurteilung der Konservierungsqualität. Aber der hohe technische und finanzielle Aufwand kann eine routinemäßige, tierexperimentelle Anwendung nicht rechtfertigen.

Die Durchführung von allogenen Einzellungentransplantationen wird gegenwärtig als Methode der Wahl betrachtet. Nach der Organverpflanzung wird die kontralaterale Lunge ausgeklemmt, um alleinig das Transplantat in seiner Funktion beurteilen zu können. Die postoperative Lungenfunktion hängt hier entscheidend von der Konservierungsqualität ab und dient der Beurteilung des Schweregrades eines Ischämie- und Reperfusionsschadens (Novick et al., 1992).

6.1.3. Extrakorporales Kleintiermodell der Ratte

Kleintiermodelle ermöglichen die Realisierung großer Fallzahlen. Es werden ex-vivo Experimente unterschieden, bei denen die Perfusion der Lunge durch die erhaltene Herzfunktion, eine hydrostatische Perfusion oder durch eine Pumpe erfolgt. Die Konservierungsqualität wird durch Oxygenierungs- und Beatmungsparameter sowie die Messung des Gehaltes an Metaboliten und energiereichen Phosphaten charakterisiert (Hirata et al., 2000). Die detaillierte Untersuchung einer Vielzahl von Fragestellungen kann durch die Standardisierung von Versuchsabläufen und Parametern im ex-vivo Kleintiermodell erfolgen. Gleichzeitig können zu untersuchende Variablen und Einflüsse beliebig variiert und verändert werden.

Für die Untersuchungen wurde ein extrakorporaler Rattenperfusionsaufbau gewählt, der sich durch eine Vielzahl von Experimenten zu ähnlichen Fragestellungen sehr gut etabliert hat (Wittwer et al., 1999; Pech 2003). Wichtigste Kennzeichen sind die extrakorporale konstant-normotherme Perfusion der Lunge und die physiologische Beatmung unter standardisierten Bedingungen.

Diese Voraussetzungen ermöglichen das zuverlässige Ableiten von wichtigen Funktionsparametern wie venöse und arterielle Sauerstoffsättigung, pulmonalarterieller Druck und inspiratorischer Spitzendruck. Durch die Verwendung einer Mikrorollerpumpe wurde zunächst mit einem nicht pulsatilen Flow von 1ml/min die Lungenperfusion begonnen. Der Fluss wurde pro Minute um 1ml/min schrittweise bis zum Erreichen eines Wertes von 8 ml/min gesteigert und ab diesem Zeitpunkt für die restliche Beobachtungszeit konstant gehalten. Diese Vorgehensweise soll innerhalb der ersten Minuten der Reperfusion eine von der Konservierungsqualität unabhängige Transplantatschädigung verhindern (Bhabra et al., 1996). So konnten stark verfälschte Ergebnisse der Oxygenierungskapazität (AOC), wie sie oft bei hydrostatischen Perfusionsmodellen auftreten, nahezu ausgeschlossen werden.

Wichtig für die Beurteilung der Lungenfunktion war die Reperfusion mit desoxygeniertem Blut. Die Verwendung eines künstlichen Desoxygenators, bei dem durch den konstanten und kontrollierten Zustrom von Kohlendioxid und Stickstoff ausreichend nicht oxygeniertes Reperfusat dem Kreislauf zugeführt wurde, minimierte weitere potentielle Störfaktoren.

Die Fixierung der Lungen über das Gefäßsystem am Ende der Reperfusion ermöglichte die spätere licht- und elektronenmikroskopische Untersuchung sowie die stereologische Analyse morphologischer Parameter.

Erkenntnisse zu Konservierungslösungen und Konservierungsabläufen im Rahmen von Lungentransplantationen, die bei einer Reihe von Vorarbeiten an diesem Modell gewonnen wurden, sind bereits veröffentlicht und in Fachkreisen anerkannt (Ochs 2001; Pech 2003; Mühlfeld et al., 2007).

6.1.4. Reperfusat

Das Reperfusat bestand aus der kristalloiden Krebs-Henseleit-Lösung (KH-Lösung), die mit Rinderbluterythrozyten auf einen Hämatokrit von 0,38 aufgesättigt wurde. Bei einem benötigten Reperfusionsvolumen von ca. 1200 ml im extrakorporalen Kreislauf, konnte diese Menge nicht durch Rattenblut aufgebracht werden. Durch die Herstellung eines „reinen Erythrozytenkonzentrates“ aus Rinderblut, nach mehrmaliger Zentrifugation und Waschung, wurden immunologische Abstoßungsreaktionen nahezu ausgeschlossen.

Ein weiterer Grund für die Sicherheit der Verwendung von Rindererythrozyten ist die Erkenntnis der Uniformität aller Säugetiererythrozyten (Fukuse et al., 1995). Die Anwendung dieser Art der Reperfusionslösung (Rindererythrozytenkonzentrat + KH-Lösung) nutzt die antioxidativen Stoffe und Puffereigenschaften der Erythrozyten und verringert die durch KH-Lösung möglichen Reperfusionsschäden (Fukuse et al., 1995).

Bei allen Gruppen wurden während der Reperusionsphase der pH-Wert und die Temperatur streng kontrolliert und konstant gehalten, um Verschiebungen der Sauerstoffbindungskurve zu verhindern, die die Daten der Blutgasanalyse verfälscht hätten. Dies war eine weitere wichtige Voraussetzung für den optimalen Vergleich der Versuchsgruppen.

6.1.5. Standardbedingungen

Die Versuchsratten wurden randomisiert den vier Versuchsgruppen zugeteilt [Tab.4.2.]. Der Ablauf der Präparation, die Lagerung während der Ischämiephase, die extrakorporale Reperfusion und Surfactantapplikation sowie die Meßmethoden wurden nach einem standardisierten Protokoll durchgeführt und überwacht.

6.1.6. Verwendetes Surfactantpräparat

Bei der Therapie des neonatalen Atemnotsyndroms (n RDS) ist die Surfactanttherapie klinisch bereits sehr gut etabliert und erfolgt gemäß den Leitlinien der „Gesellschaft für Neonatologie und Pädiatrischer Intensivmedizin“ (AWMF, 2005).

Wie bereits in [2.5.2.] beschrieben, kommt es beim Ischämie- und Reperfusionsschaden zur direkten Schädigung und Inaktivierung des Surfactantsystems, die maßgeblich zu einer Verschlechterung der pulmonalen Oxygenierungskapazität beiträgt.

Umso wichtiger ist es, bei der exogenen Therapie auf Präparate zurückzugreifen, die durch ihre spezifische Proteinzusammensetzung eine hohe Inaktivierungsresistenz besitzen (Taeusch, 2000). In Fachkreisen herrscht Einigkeit darüber, dass exogene Surfactantpräparate mindestens eines der beiden hydrophoben Surfactantproteine (SP-B und/ oder SP-C) enthalten sollten (Jobe, 2000). Das in den Versuchen verwendete Curosurf® ist ein natürliches, aus Schweinelungen gewonnenes Präparat, das sowohl SP-B und SP-C enthält. Unter diesen Gesichtspunkt wurde es ausgewählt, um einer zu frühen und starken Inaktivierung nach der exogenen intratrachealen Applikation vorzubeugen.

Die Dosierung orientierte sich an den aktuellen klinischen Standards in der Neonatalmedizin und betrug 200mg/kg KG. Curosurf®. Bei den Versuchen wurden die Anwendungsvorschriften des Herstellers streng eingehalten und ständig überwacht.

6.1.7. Konservierungs- und Lagerungsbedingungen

Auf dem Gebiet der Lungentransplantation gibt es seit vielen Jahren intensive Bemühungen, durch neue Konservierungslösungen und Zusätze das Ausmaß eines Ischämie- und Reperfusionsschadens zu minimieren und das postoperative Outcome zu verbessern. Die protektiven Effekte von Perfadex® als „low-potassium-dextran-solution“ (LPD-Lösung) auf die Schwere eines Ischämie- und Reperfusionsschaden sowie eine alveoläre Ödembildung wurden durch die gleiche Arbeitsgruppe an diesem Rattenmodell erarbeitet und können durch signifikante Ergebnisse belegt werden (Wittwer et al., 2005, Mühlfeld et al., 2007).

Anhand dieser Grundlagen wurde Perfadex® als Konservierungslösung der Wahl für die Konservierung der Rattenlungen ausgewählt. Die Perfusion der Lungen erfolgte als hypotherme Flushperfusion über die Pulmonalarterie, mit einer Menge von 40-60 ml/kg KG bei einem hydrostatischen Druck von 15 mmHg und einer Temperatur von 4°C. Durch diesen

standardisierten Ablauf wurde ein schnelles und gleichmäßiges Abkühlen der Lungenpakete gewährleistet und das Blut optimal aus dem Gefäßsystem gespült.

Die Tendenz zur Ausbildung spontaner Lungenödeme und pulmonaler Hypertension ist gegenüber in vivo Modellen von Nachteil und führte zur Begrenzung der Ischämiezeit auf vier Stunden (Novick et al., 1992).

Durch mehrere Studien konnte gezeigt werden, dass eine Lagerungstemperatur von 10°C niedrigeren und höheren Temperaturen überlegen zu sein scheint und deshalb zu favorisieren ist (Shiraishi et al., 1994).

Das Inflationsvolumen während der Ischämiezeit betrug etwa 50 % der totalen Lungenkapazität. Die Vorteile einer solchen milden Inflation gegenüber einer Hyperinflation, die als gewebsschädigend gilt, wurden anhand einer Studie belegt (De Campos et al., 1998).

6.1.8. Untersuchte Parameter

Der Vergleich der Tiergewichte sollte zu große Schwankungen erkennen, bei denen durch sehr große oder sehr kleine Lungenvolumina die Oxygenierungsfunktionen schon vor der Ischämie und Reperfusion bei jenen Lungen limitiert gewesen wäre.

Für die Beurteilung der postischämischen Organfunktion kann eine Vielzahl von Parametern eingesetzt bzw. erhoben werden. An funktionellen Werten sind es vor allem die der Oxygenierung, der Hämodynamik sowie der Ventilation. Auf zellulärer Ebene nutzt man licht- und elektronenmikroskopische Analyseverfahren, die in Verbindung mit stereologischen Ansätzen der Erkennung grundlegender pathophysiologischer Vorgänge beim Ischämie- und Reperfusionsschaden dienen.

Als wichtigster Wert für die funktionelle Beurteilung gilt die absolute Oxygenierungskapazität (**AOC**). Sie ist ein wesentlicher limitierender Faktor der Transplantatfunktion und korreliert eng mit der Schwere eines Ischämie- und Reperfusionsschadens (Kirk et al., 1993; Stehen et al., 2001). In Verbindung mit lichtmikroskopisch-stereologischen Analysen zur Erkennung von intralveolären Ödemen und Erythrozyten **V (alved-alvedery/Lunge) [ml]** sollte der Einfluss einer Surfactanttherapie zu unterschiedlichen Zeitpunkten auf die Schwere eines Ischämie-Reperfusionsschadens auf funktioneller und morphologischer Ebene zwischen den Gruppen untersucht und charakterisiert werden.

Die Analyse des pulmonal-inspiratorischen Spitzendrucks (**PIP**) kann bei konstanten Respiratoreinstellungen einen Rückschluss auf die Lungencompliance geben. Diese korreliert positiv mit dem Ödemgrad, welcher wiederum ein Maß für die Schwere des Ischämie- und Reperfusionsschadens ist. Speziell sollte in diesem Versuchsaufbau untersucht werden, ob und wie sich die Applikation von Surfactant zu verschiedenen Zeitpunkten auf die Compliance der Lungen auswirkt.

Der pulmonal-vaskuläre Widerstand (**PVR**) ist ein Parameter der Hämodynamik und wird mit Hilfe des pulmonal-arteriellen Drucks (**PAP**) errechnet. Zwar kann dieser Wert für die Beurteilung des Ischämie- und Reperfusionsschadens und der Konservierungsqualität genutzt werden, dennoch ist seine Aussagekraft eingeschränkt. Durch die präparationsbedingte Denervierung der Lunge können ebenfalls starke Druckschwankungen auftreten, die dann nicht nur einer schlechten Konservierungsqualität des Organs zu Grunde liegen (Haverich et al., 1985).

6.2. Diskussion der Ergebnisse

6.2.1 Tiergewichte

Die Versuchstiere zeigten hinsichtlich ihrer Körpergewichte keine signifikanten Unterschiede ($p=1,0$). Dieser Umstand schließt eine von vornherein limitierte und außergewöhnlich hohe Lungenfunktion, die Einfluss auf den postoperativen Gasaustausch hätte, nahezu aus. Die stereologische Auswertung der exakten Lungenvolumina bestätigt diese Tatsache und zeigte ebenfalls keine signifikanten Unterschiede innerhalb und zwischen den Versuchsgruppen ($p > 0,05$).

6.2.2. Absolute Oxygenierungskapazität (AOC)

Die Lungen aller Gruppen konnten über den gesamten Messzeitraum von 50 Minuten beobachtet und hinsichtlich ihrer Gasaustauschfunktion evaluiert werden. In keinem Fall kam es zu frühzeitigen Versuchsabbrüchen.

In Versuchsgruppe **2 (SurfvIsch)** wurden durch die endobronchiale Surfactantgabe vor Ischämie die mit Abstand besten Ergebnisse erzielt. Ab dem zwanzigminütigen Messzeitpunkt waren die Unterschiede zu jeder der übrigen Gruppen bis zum Ende der Reperusionsphase nach 50 Minuten signifikant ($p < 0,05$).

Die Lungenfunktion in Gruppe **4 (SurfiReperf)** war zunächst mäßig und konnte durch die späte Applikation von Surfactant nach 20 Minuten Reperfusion auch nicht verbessert werden. Im Vergleich mit der Gruppe **3 (SurfnIsch)**, die Surfactant nach der vierstündigen Ischämie erhielt und der Gruppe **1 (kSurf)** als Kontrolle, wurden zwar bessere Oxygenierungswerte ermittelt, diese erreichten aber kein statistisch signifikantes Niveau ($p>0,05$).

Die Applikation von Surfactant nach Ischämie bzw. vor der Reperfusion in Gruppe **3 (SurfnIsch)** brachte keinen Vorteil. In dieser Gruppe wurden neben der Kontrollgruppe **1 (kSurf)**, die kein Surfactant erhielt, die mit Abstand schlechtesten Werte der absoluten Oxygenierungskapazität (**AOC**) ermittelt, die aber nur im Vergleich mit Gruppe **2 (SurfvIsch)**, ab dem Messzeitpunkt 20 Minuten, statistisch signifikantes Niveau erreichten ($p=0,004$).

Jede der mit Surfactant behandelten Gruppen (**2, 3, 4**) und die Kontrolle (Gruppe **1**) zeigten über den Beobachtungszeitraum einen Abfall der Oxygenierungskapazität, ohne aber signifikantes Niveau zu erreichen. Die Gruppe **2 (SurfnIsch)** zeichnete sich dabei durch den besten Verlauf und den geringsten Abfall der Werte aus.

Diese Ergebnisse der absoluten Oxygenierungskapazität zeigen, dass durch eine Surfactanttherapie die postischämische Lungenfunktion gegenüber der gegenwärtigen Konservierung ohne Surfactant signifikant bis hochsignifikant ($p=0,001$) verbessert werden kann, wenn die intratracheale Applikation von Surfactant (Curosurf®) vor Flush und anschließender Ischämie und Reperfusion stattfindet.

Die postischämische Therapie und die Therapie mit Surfactant nach 20 Minuten Reperfusion scheint dagegen keine Verbesserungsansätze gegenüber den aktuell verbreiteten Lungenkonservierungsstrategien ohne exogene Surfactanttherapie zu bieten.

6.2.3. Pulmonal-inspiratorischer Spitzendruck (PIP)

Der pulmonal-inspiratorische Spitzendruck steht in negativer Relation zur Compliance der Lunge und soll mit ihrem Ödemgrad korrelieren (Pech, 2003). Vor diesem Hintergrund müsste eine schlecht konservierte Lunge mit schwerem Ischämie- und Reperfusionsschaden und daraus resultierenden Oxygenierungsproblemen sehr hohe Spitzendrücke entwickeln.

Diese Tatsache kann anhand der erhobenen Ergebnisse nicht bestätigt werden. Die Werte sowohl von Kontrollgruppe **1 (kSurf)** als auch die der Gruppen **2 (SurfvIsch)**, **3 (SurfnIsch)**

und **4 (SurfiReperf)** befinden sich alle auf etwa gleichem Niveau, ohne dass dabei, bis auf eine Ausnahme, signifikante Unterschiede bestehen [Tab. 5.2.2.].

Zu Beginn der Messungen hatte die Kontrollgruppe **1 (kSurf)** den geringsten Spitzendruck, der im Vergleich mit Gruppe **2 (SurfvIsch)** ein statistisch signifikantes Niveau von $p=0,005$ erreicht. Die Gruppen **2 (SurfvIsch)** und **3 (SurfnIsch)** zeigen im Verlauf der Messungen ein gleich bleibendes Niveau. In Gruppe **4 (SurfiReperf)** stieg der **PIP** nach der Gabe von Surfactant auf die höchsten Werte aller Gruppen an, aber statistisch nicht signifikant ($p<0,05$).

Vor dem Hintergrund, dass alle Gruppen nahezu gleiche Werte des Spitzendrucks erreichten und sich die mit sehr guter Oxygenierungskapazität (**SurfvIsch**) von denen mit mäßiger (**SurfnIsch** und **SurfiReperf**) und schlechter (**kSurf**) nicht unterscheiden, obwohl es signifikante Unterschiede im Ödemgrad gibt, muss vermutet werden, dass der pulmonal-inspiratorische Spitzendruck in diesem Versuchsmodell und der gegenwärtigen Fragestellung nicht sensibel genug ist, auch bei kleinen Veränderungen der Konservierungsqualität einen Ausschlag anzuzeigen, oder dass der entsprechende Lungenschaden nicht ausreichend war, um Unterschiede aufzuzeigen.

6.2.4. Pulmonal-vaskulärer Widerstand (PVR)

Das pulmonale Gefäßsystem kann durch Ischämie mit nachfolgender Reperfusion stark geschädigt werden. Der Gefäßwiderstand dient deshalb als weiteres Maß der Konservierungsqualität. Dabei muss aber beachtet werden, dass durch die Denervierung der Lungen in diesem Modell Druckanstiege auftreten können, die zwar zu einer Widerstandserhöhung führen, aber nicht im Rahmen schlechter Organkonservierung begründet werden dürfen (Haverich et al., 1985). Für die Konservierung ist vor allem die optimale Zusammensetzung der verwendeten Perfusionslösung von Bedeutung (Wittwer et al., 2005). Dennoch sollte auch untersucht werden, ob die zeitlich versetzte Surfactanttherapie Einfluss haben kann.

In Gruppe **3 (SurfnIsch)** zeigten sich die niedrigsten Werte mit den in Abstand geringsten Standardabweichungen vom Mittelwert [Tab. 7.1.3]. Während in Gruppe **4 (SurfiReperf)** ebenfalls moderate Drücke bestimmt wurden, so zeigten sich in den Gruppen **1 (kSurf)** und **2 (SurfvIsch)** massiv erhöhte Druckwerte. Durch die hohe Varianz der Messwerte in diesen Gruppen (**1** und **2**) wurde aber im Vergleich mit Gruppe **3** und **4** kein statistisch signifikantes Niveau erreicht ($p>0,05$).

Auffallend ist auch hier die fehlende Korrelation zu den Parametern der Oxygenierung (**AOC**). Diese Tatsache führt zu der Annahme, dass die zeitlich versetzte Surfactanttherapie keine direkte Wirkung auf die Konservierung des pulmonalen Gefäßsystems hat und die Einflüsse der pulmonalen Denervierung, trotz gleicher Konservierungslösung in allen Gruppen, zu unterschiedlich starken Gefäßkonstriktionen und Endothelzellschäden führten.

6.2.5. Stereologische Ödemquantifizierung

Die strukturellen Veränderungen und Störungen der Lungenarchitektur im Rahmen eines Ischämie- und Reperfusionsschadens führen zur Ausbildung von interstitiellen und intraalveolären Ödemen, die als Folge den Gasaustausch über die Blut-Luft-Schranke negativ beeinflussen (Mühlfeld et al., 2007). Darüber hinaus wird auch das Surfactantsystem schwer geschädigt, was wiederum zu einer alveolären Ödem- und Erythrozytenformation führt (Lewis et al., 1997; De Perrot et al., 2003).

Basierend auf Erkenntnissen früherer Studien, die den Nutzen einer Surfactanttherapie auf den Ischämie- und Reperfusionsschaden belegen (Van der Kaaij et al., 2005), sollte in diesem Projekt die Ödembildung hinsichtlich verschiedener Zeitpunkte der intratrachealen Surfactantgabe und im Vergleich zu einer Kontrollgruppe untersucht werden und den funktionellen Daten gegenübergestellt werden. Wie in [Tab.7.1.4.] dargestellt, wurden intraalveoläres Ödem **V (alved/Lunge) [ml]** und intraalveoläre Erythrozyten (**alvedery/Lunge) [ml]** einzeln und zusammen analysiert **V (alved-alvedery/Lunge) [ml]**.

Dabei zeigte sich in Gruppe **2 (SurfvIsch)** durch die präischämische Surfactantgabe das signifikant geringste intraalveoläre Volumen **V (alved-alvedery/ Lunge) [ml]** im Vergleich mit den anderen Gruppen (**1,3,4**) ($p < 0,05$). Die Applikation von Surfactant nach der Ischämiephase (Gruppe **3**) konnte die Extravasion von Flüssigkeit und Erythrozyten nicht verhindern, ebenso wenig die Gabe nach 20 Minuten Reperfusion (Gruppe **4**). Zwar war das intraalveoläre Volumen geringer als in der Kontrollgruppe **1 (kSurf)**, aber statistisch gesehen signifikant größer als nach präischämischer Gabe in Gruppe **2** ($p < 0,05$).

Diese Ergebnisse korrelieren sehr eng mit den Oxygenierungsleistungen (**AOC**) der Gruppen und liefern für das Ausmaß der pulmonalen Funktionsstörung die morphologische Bestätigung. So bietet die Morphologie in Form der stereologischen Analyse einen statistisch signifikanten Beleg dafür, dass die prophylaktische Surfactantgabe vor der Ischämiephase

gegenüber späteren Zeitpunkten und der gegenwärtigen Konservierung ohne Surfactant überlegen ist.

6.3. Interpretation des zeitlichen Einflusses der Surfactantgabe

Der Untersuchung zum zeitlichen Einfluss einer Surfactanttherapie auf den Ischämie- und Reperfusionsschaden im Rahmen von Lungentransplantationen am Rattenmodell gingen zahlreiche Experimente voraus, um zunächst einmal die „optimale“ Konservierungslösung und die „optimalen“ Konservierungsbedingungen zu evaluieren (Haverich et al., 1985; Kelly et al. 2000; Wittwer et al., 2005).

Auf Grundlage der Ergebnisse jener Studien und dem zunehmenden Verständnis der ischämie- und reperfusionsbedingten Surfactantschädigung, sollte die exogene Surfactanttherapie eine weitere Möglichkeit der besseren Lungenkonservierung bieten.

Einige tierexperimentelle Studien zeigten bereits den positiven Effekt einer exogenen Surfactanttherapie auf die Konservierungsqualität von Lungentransplantaten (Erasmus et al., 2002). Allerdings fehlten bisher Untersuchungen zum idealen Zeitpunkt der endobronchialen Surfactantgabe.

In dieser Arbeit wurden die Möglichkeiten einer präischämischen Surfactanttherapie (Gruppe **2**), einer postischämischen Surfactanttherapie (Gruppe **3**) und einer Surfactanttherapie nach 20 Minuten Reperfusion (Gruppe **4**) untereinander und mit einer Kontrollgruppe (Gruppe **1**) verglichen.

Auf Grundlage der funktionellen Ergebnisse (**AOC**) und morphologischen Daten, kann die Gabe von Surfactant vor Ischämie als Therapieoption mit dem größten Nutzen angesehen werden. Sowohl im Vergleich mit der Kontrollgruppe als auch mit den übrigen Therapiegruppen zeigten sich signifikant bessere Werte, die auf einen positiven Effekt im Rahmen des Ischämie- und Reperfusionsschadens hinweisen. Spätere Applikationszeiten konnten vor allem auch gegenüber der Kontrollgruppe nicht überzeugen und deuten darauf hin, dass sie keine neuen Ansätze zur verbesserten Organkonservierung bei Lungentransplantationen bieten können.

6.4. Schlussfolgerungen

Eine wesentliche Komplikation bei Lungentransplantationen in der Frühphase nach Operation ist der Ischämie- und Reperfusionsschaden. Unter diesem Begriff versteht man eine Vielzahl pathophysiologischer, pathobiochemischer und pathomorphologischer Vorgänge, die schlussendlich alle in einem frühen Transplantatversagen mit Ausbildung alveolärer Ödeme und einer durch Störungen der Surfactanthomöostase bedingten Hypoxämie enden.

Die Behandlung der Spenderlunge mit einem exogenen Surfactantpräparat stellt einen innovativen Ansatz zur Optimierung der Organkonservierung und damit zur Verringerung des Auftretens eines Ischämie- und Reperfusionsschadens dar.

Nachdem bei einer Reihe von anderen Lungenerkrankungen (nRDS) die exogene Surfactanttherapie als klinischer Standard gilt und bereits tierexperimentelle Studien zur Therapie bei Lungentransplantationen Erfolg versprechend waren, galt es, den optimalen Zeitpunkt zu evaluieren.

Die Surfactantapplikation vor der vierstündigen Ischämiezeit zeigte sich gegenüber der Standardkonservierung ohne Surfactant und den postischämischen Applikationszeitpunkten als klar überlegen. Sowohl bei der funktionellen als auch bei der morphologischen Auswertung war die Überlegenheit signifikant. Die frühe Gabe scheint die derzeit gängigen Konservierungsstrategien zu optimieren, indem sie die strukturelle und funktionelle Integrität des Surfactantsystems schützt bzw. erhält und auf diesem Weg das Ausmaß eines Ischämie- und Reperfusionsschadens womöglich begrenzt.

Das in dieser Arbeit angewandte Tiermodell wurde seinem Anspruch, als kostengünstige Screeningmethode zu dienen, gerecht. Die Ergebnisse liefern die Grundlage für die weitere Erprobung neuer synthetischer Surfactantpräparate ohne und mit spezifischen Zusätzen, die nach anschließenden Großtierversuchen Einzug in den klinischen Alltag der präischämischen Lungenkonservierung halten könnten.

7. Verzeichnisse

7.1. Tabellen

Dargestellt sind Mittelwert \pm Standardabweichung

7.1.1 Absolute Oxygenierungskapazität (AOC)

AOC	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3	Gruppe 4
10 min	74,02 \pm 70,86	164,94 \pm 41,65	69,14 \pm 36,56	82,60 \pm 62,92
20 min	60,46 \pm 66,08	177,28 \pm 46,86	44,60 \pm 16,95	77,50 \pm 59,03
30 min	38,67 \pm 21,58	166,02 \pm 48,38	43,58 \pm 16,72	79,70 \pm 50,70
40 min	35,93 \pm 17,00	158,62 \pm 48,58	41,58 \pm 16,72	67,06 \pm 40,27
50 min	31,40 \pm 12,48	149,26 \pm 52,73	37,60 \pm 15,71	57,30 \pm 31,80

[Tab.7.1.1.] Mittlere- absolute Oxygenierungskapazität AOC [mmHg] für jeden Messzeitpunkt [min]

Gruppe 1= kein Surfactant (Kontrolle), Gruppe 2= Surfactant vor Ischämie;

Gruppe 3= Surfactant nach Ischämie, Gruppe 4= Surfactant nach 20 min Reperfusion

7.1.2. Pulmonal-inspiratorischer Spitzendruck (PIP)

PIP	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3	Gruppe 4
10 min	12,72 \pm 5,93	23,86 \pm 3,00	20,25 \pm 1,46	18,86 \pm 5,60
20 min	19,09 \pm 7,38	24,54 \pm 2,62	20,22 \pm 1,48	20,57 \pm 8,87
30 min	21,30 \pm 10,72	25,00 \pm 2,78	19,99 \pm 2,06	26,36 \pm 5,65
40 min	18,56 \pm 1,74	24,77 \pm 3,05	20,45 \pm 2,27	26,59 \pm 9,63
50 min	21,58 \pm 1,98	25,68 \pm 4,93	18,41 \pm 4,89	27,04 \pm 8,74

[Tab.7.1.2.] Mittlerer, pulmonal- inspiratorischer Spitzendruck PIP [mmHg] für jeden Messzeitpunkt [min]

Gruppe 1= kein Surfactant (Kontrolle), Gruppe 2= Surfactant vor Ischämie;

Gruppe 3= Surfactant nach Ischämie, Gruppe 4= Surfactant nach 20 min Reperfusion

7.1.3. Pulmonal-vaskulärer Widerstand (PVR)

PVR	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3	Gruppe 4
10 min	482,28 ± 308,42	595,93 ± 298,88	214,86 ± 34,99	257,76 ± 71,02
20 min	496,38 ± 332,03	528,90 ± 257,47	209,87 ± 7,40	261,94 ± 78,67
30 min	575,00 ± 368,56	515,56 ± 257,00	219,73 ± 12,73	277,59 ± 84,05
40 min	544,00 ± 261,93	516,45 ± 237,09	230,81 ± 17,71	274,85 ± 91,95
50 min	617,33 ± 331,94	516,45 ± 235,39	242,54 ± 10,25	283,02 ± 95,58

[Tab.7.1.3.] Mittlerer pulmonal-vaskulärer Widerstand PVR [dyn*sec*cm⁻⁵] für jeden Messzeitpunkt [min]

Gruppe 1= kein Surfactant (Kontrolle), Gruppe 2= Surfactant vor Ischämie;
Gruppe 3= Surfactant nach Ischämie, Gruppe 4= Surfactant nach 20 min Reperfusion

7.1.4. Stereologische Parameter

Parameter	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 2	Gruppe 4
V (Lunge) [ml]	6,20 ± 1,60	5,20 ± 0,90	4,80 ± 1,50	4,60 ± 0,60
V (alved/Lunge) [ml]	0,12 ± 0,19	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
V (alvedery/Lunge) [ml]	0,08 ± 0,09	0,01 ± 0,01	0,07 ± 0,08	0,03 ± 0,03
V (alved-alvedery/Lunge) [ml]	0,20 ± 0,23	0,01 ± 0,01	0,07 ± 0,08	0,03 ± 0,03

[Tab.7.1.4] Stereologische Parameter.

V: totales Volumen; **alved:** intraalveoläres Ödem; **alvedery:** intraalveoläre Erythrozyten

Gruppe 1= kein Surfactant (Kontrolle), Gruppe 2= Surfactant vor Ischämie;
Gruppe 3= Surfactant nach Ischämie, Gruppe 4= Surfactant nach 20 min Reperfusion

7.2. Abbildungsverzeichnis

Abbildungen	Seite
Abb.2.3.3. Zusammensetzung der Surfactanttrockenmasse	15
Abb.2.4.1. Indikationen für Einzel- und Doppellungentransplantationen	17
Abb.2.4.2. Anzahl durchgeführter Lungentransplantationen sowie jährliche Neuanmeldungen	18
Abb.2.4.3. Ideale und marginale Spender und Organkriterien sowie Kontraindikationen zur Lungentransplantation	19
Abb.2.5.1. Übersicht der Veränderungen im Transplantat während Ischämie und Reperfusion	23
Abb.4.5.2. Endotracheale Intubation des Versuchstieres	38
Abb.4.5.4. Mediane, totale Sternotomie des Rattenthorax	39
Abb.4.5.5.a Kanülierung des Truncus pulmonalis über den rechten Ventrikel	40
Abb.4.5.5.b Die Konservierungslösung läuft beim Flushmanöver über das linke Atrium ab	40
Abb.4.5.6. Über Trachea und Arteria pulmonalis kanüliertes Herz-Lungen-Paket	41
Abb.4.7.a Schema des extrakorporalen Reperusionsmodells	44
Abb.4.7.b Reperfundierte Lunge im extrakorporalen Keislauf	45
Abb.4.9.2. Absolute Oxygenierungskapazität [mmHg]	47
Abb.4.9.3. Pulmonal-vaskulärer Widerstand PVR [$\text{dynes} \cdot \text{sec} \cdot \text{cm}^{-5}$]	48
Abb.4.10. Volumenanteil des intraalveolären Ödems an der Lunge	49
Abb.5.1. Mittleres Gewicht der Versuchstiere (Gramm)	50
Abb.5.2.1. Absolute Oxygenierungskapazität AOC (dPO_2)	51
Abb.5.2.2. Pulmonal-inspiratorischer Spitzendruck (PIP)	53
Abb.5.2.3. Pulmonal-vaskulärer Widerstand (PVR)	54
Abb.5.3.a Alveolärer Ödem- und Erythrozytenanteil am Gesamtlungenvolumen	56
Abb.5.3.b Lichtmikroskopischer Schnitt einer Lunge aus Gruppe 1	58
Abb.5.3.c Lichtmikroskopischer Schnitt einer Lunge aus Gruppe 2	58
Abb.5.3.d Lichtmikroskopischer Schnitt einer Lunge aus Gruppe 3	59
Abb.5.3.e Lichtmikroskopischer Schnitt einer Lunge aus Gruppe 4	59

7.3. Tabellenverzeichnis

Tabelle	Seite
Tab.4.2. Definition der Gruppen	36
Tab.4.3. Zusammensetzung der Lungenkonservierungslösung	37
Tab.4.6.2. Zusammensetzung der Krebs- Henseleit- Lösung pro 1000 ml	43
Tab.5.1. Gruppenvergleich der Tiergewichte	50
Tab.5.2.1. Absolute Oxygenierungskapazität (AOC)	51
Tab.5.2.2. Pulmonal-inspiratorischer Spitzendruck (PIP)	53
Tab.5.2.3. Pulmonal-vaskulärer Widerstand (PVR)	55
Tab.5.3. Gruppenvergleich der stereologischen Parameter	57
Tab.7.1.1. Mittlere-absolute Oxygenierungskapazität AOC [mmHg] für jeden Messzeitpunkt [min]	71
Tab.7.1.2. Mittlerer, pulmonal-inspiratorischer Spitzendruck PIP [mmHg] für jeden Messzeitpunkt [min]	71
Tab.7.1.3. Mittlerer pulmonal-vaskulärer Widerstand PVR [dyn*sec*cm ⁻⁵] für jeden Messzeitpunkt [min]	72
Tab.7.1.4. Stereologische Parameter	72

8. Literaturverzeichnis

1. Abunasra HJ; Smolenski RT; Morrison K; Yap J; Sheppard MN; O'Brien T; Suzuki K; Jayakumar J; and Yacoub MH (2001). Efficacy of adenoviral gene transfer with manganese superoxide dismutase and endothelial nitric oxide synthase in reducing ischemia and reperfusion injury. *Eur J Cardiothorac Surg*, 20:153-58.
2. Ambrosio G; and Tritto I (1999). Reperfusion injury: Experimental evidence and clinical implications. *Am Heart J*, 138:69-75.
3. American Thoracic Society (1998). International guidelines for the selection of lung transplant candidates. *Am J Respir Crit Care Med*, 158:335–339.
4. Anaise D; and Rapaport FT (1993). Use of Non-Heart-Beating Cadaver Donors in Clinical Organ Transplantation- Logistics, Ethics, and Legal Considerations. *Transplant Proc*, 25:2153-2155.
5. Antus B; Fillinger J; Csiszer E; Czebe K; and Horvath I (2005). Bronchiolitis obliterans syndrome in lung transplant recipients. *Orv Hetil*, 8;146(19): 953-958.
6. Avery ME (2000). Surfactant deficiency in hyaline membrane disease: the story of discovery. *Am J Respir Crit Care Med*, 161:1074-1075.
7. AWMF (2005). Surfactanttherapie des neonatalen Atemnotsyndroms – RDS des Frühgeborenen. Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften, Register Nr. 024/ 021.
8. Baldwin JC; Frist WH; Starkey TD; Harjula A; Starnes VA; Stinson EB; Oyer PE; and Shumway NE (1987). Distant graft procurement for combined heart and lung transplantation using pulmonary artery flush and simple topical hypothermia for graft preservation. *Ann Thorac Surg*, 43(6):670-3.

9. Bando T; Albes JM; Fehrenbach H; Nüsse T; Schafers HJ; and Wahlers T (1998). Influence of the potassium concentration on functional and structural preservation of the lung: where is the optimum? *J Heart Lung Transplant*, 17(7):715-24.
10. Barr ML; Baker CJ; Schenkel FA; Bowdish ME; Bremner RM; Cohen RG; Barbers RG; Woo MS; Horn MV; Wells WJ; and Starnes VA (2001). Living donor lung transplantation: selection, technique, and outcome. *Transplant Proc*, 33:3527-32.
11. Battafarano RJ; Anderson RC; Meyers BF; Guthrie TJ; Schuller D; Cooper JD; and Patterson GA (2000). Perioperative complications after living donor lobectomy. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 120(5):909-15.
12. Becker PM; Alcasabas A; Yu AY; Semenza G; and Bunton TE (2000). Oxygen-independent upregulation of vascular endothelial growth factor and vascular barrier dysfunction during ventilated pulmonary ischemia in isolated ferret lungs. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 22:272-79.
13. Belzer FO (1993). Evaluation of preservation of the intra-abdominal organs. *Transplant Proc*, 25(4):2527-30.
14. Bhabra MS; Hopkinson DN; Shaw TE; and Hooper TL (1996). Critical importance of the first 10 minutes of lung graft reperfusion after hypothermic storage. *Ann Thorac Surg*, 61(6):1631-5.
15. Bittner HB; Kendall SW; Chen EP; Craig D; and Van Trigt P (1995). The effects of brain death on cardiopulmonary hemodynamics and pulmonary blood flow characteristics. *Chest*, 108:1358-63.
16. Boehler A (2004). Stand der Lungentransplantation heute. *Schweizer Med Forum*, 4:436-442.
17. Boehler A; and Estenne M (2000). Obliterative bronchiolitis after lung transplantation. *Curr Opin Pulm Med*, 6:133-9.

- 18.** Botas C; Poulain F, Akiyama J, Brown C, Allen L; Goerke J; Clements J; Carlson E; Gillespie AM; Epstein C; and Hawgood S (1998). Altered surfactant homeostasis and alveolar type II cell morphology in mice lacking surfactant protein D. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95:11869-11874.
- 19.** Bundesärztekammer “Richtlinien für die Transplantation von Organen”
Bundesärztekammer: 14. Februar 2003.
- 20.** Calvin SH; Song W; Ahmed A; and Antony PC (2006). Inflammatory Response to Pulmonary Ischemia- Reperfusion Injury. *Surg Today*, 36:205-214.
- 21.** Casals C; Varela A; Ruano MLF; Valino F; Perez- Gil J; Torr N; Jorge E; Tendillo F;and Castillo- Olivares (1998). Increase of C-reactive protein and decrease of surfactant protein A in surfactant after lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med*, 157:43-49.
- 22.** Chang DM; Hsu K; Ding YA; and Chiang CH (1997). Interleukine-1 in ischemia reperfusion-acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*, 156 (4 Pt 1):1230-4.
- 23.** Chiang CH; Wu K; Yu CP; Yan HC; Perng WC; and Wu CP (1999). Hypothermia and prostaglandin E(1) produce synergistic attenuation of ischemia-reperfusion lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*, 160(4): 1319-23.
- 24.** Chien S; Zhang F; Niu W; Tseng MT; and Gray L Jr. (2000). Comparison of university of wisconsin, euro-collins, low-potassium dextran, and krebshenseleit solutions for hypothermic lung preservation. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 119(5):921-30.
- 25.** Clements JA; and Avery ME (1998). Lung surfactant and neonatal respiratory distress syndrom. *Am J Respir Crit Care Med*, 157:S59-S66.
- 26.** Cochrane CG; and Revak SD (1991). Pulmonary surfactant protein B (SP-B): structure-function relationships. *Science*, 254:566-568.
- 27.** Cole FS; Hamvas A; and Nogee LM; (2001). Genetic disorders of neonatal respiratory function. *Ped Res*, 50:157-162.

28. Collins GM; Bravo-Shugarman M; and Terasaki PI (1969). Kidney preservation for transportation. Initial perfusion and 30 hours' ice storage. *Lancet*, 2(7632):1219-22.
29. Conte JV; and Baumgartner WA (2000). Overview and future practice patterns in cardiac and pulmonary preservation. *J Card Surg*, 15:91-107.
30. Cooper JD; Pearson FG; Paterson GA; Todd TR; Ginsberg RJ; Goldberg M; and DeMajo WA (1987). Technique of successful lung transplantation in humans. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 93(2):173-181.
31. Creuwels LAJM; van Golde LMG; and Haagsman HP (1997). The pulmonary surfactant system: biochemical and clinical aspects. *Lung* ,175:1-39.
32. Crouch E; and Wright JR (2001). Surfactant apoproteins A and D and pulmonary host defense. *Annu Rev Physiol*, 63:521-554.
33. De Campos KN; Keshavjee S; Liu M; and Slutsky AS (1998). Optimal inflation volume for hypothermic preservation of rat lungs. *J Heart Lung Transplant*, 17:599-607.
34. Demikov VP (1962). Experimental transplantation of vital organs. Authorized translation from the Russian by Basil Haigh. Edited, *Consultans Bureau* , New York.
35. De Perrot M; Liu M; Waddell TK; and Keshavjee S (2003). Ischemia- Reperfusion-induced Lung Injury. *Am J Respir Crit Care Med*, 167(4):490-511.
36. Downey GP; Dong Q; Kruger J; Dedhar S; and Cherapanow V (1999). Regulation of neutrophil activation in acute lung injury. *Chest*, 116:46S-54S.
37. Derom F; Barbier F; Ringoir S; Versieck J; Rolly G; Berzsenyi G; Vermeire P; and Vrints L (1971). Ten month survival after lung homotransplantation in man. *J.Thorac Cardiovasc Surg*, 61(6):835-46.
38. Egan TM; Boychuk JE; Rosato K; and Cooper JD (1992). Whence the lungs? A study to assess suitability of donor lungs for transplantation. *Transplantation*, 53(2):420-2.

39. Eppinger MJ; Deeb GM; Bolling SF; and Ward PA (1997). Mediators of ischemia-reperfusion injury in the rat lung. *Am J Pathol*, 150:1773-83.
40. Erasmus ME; Hofstede GJH; Petersen AH; Batenburg JJ; Haagsman HP; Bambang - Oetomo S; and Prop J (2002). SP-A-enriched surfactant for treatment of rat lung transplants with SP- A deficiency after storage and reperfusion. *Transplantation*, 73:348-352.
41. Fazzalari FL; Montoya JP; Bonnell MR; Bliss DW; Hirschl RB; and Bartlett RH (1994). The Development of an Implantable Artificial Lung. *ASAIO J*, 40:M728-31.
42. Fehrenbach H (2001). Alveolar type II cell: defender of the alveolus revisited. *Respir Res*, 2:33-46.
43. Fehrenbach A; and Ochs M (1998). Studying lung ultrastructure. In: Uhlig S; Taylor AE; eds. *Methods in pulmonary research*. Basel: Birkhaeser, 429-54.
44. Fischer AJ; Donnelly SC; Hirani N; Haslett C; Strieter RM; Dark JH; and Corris PA (2001). Elevated Levels of Interleukin-8 in Donor Lungs is Associated with Early Graft Failure after Lung Transplantation. *Am J Respir Crit Care Med*; 163:259-65.
45. Fiser SM; Tribble CG; Long SM; Kaza AK; Cope JT; Laubach VE; Kern JA; Kron LO (2001). Lung transplant reperfusion injury involves pulmonary macrophages and circulation leukocytes in biphasic response. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 121:1069-75.
46. Franke U; Wiebe K; Harringer W; Franke T; Wittwer T; Wahlers T; and Haverich A (2000). Ten years experience with lung and heart-lung transplantation in primary and secondary pulmonary hypertension. *Eur J Cardiothorac Surg*, 18(4):447-5.
47. Fukuse T; Albes JM; Takahashi Y; Brandes H; Hausen B; and Schafers HJ (1995). Influence of red blood cells on lung function in an ex vivo rat heart-lung model. *J Surg Res*, 59(3):399-404.

- 48.** Gaspert A; Boehler A; Weder W; Speich R; and Vogt P (2000). Special problems after lung transplantation: walking a tightrope between infection and graft rejection. *Schweiz Med Wochenschr*, 130:944–51.
- 49.** Grover FL; Fullerton DA; Zamora MR; Mills C; Ackermann B; Badesch D; Brown JM; Campbell DN; Chetham P; Dhaliwal A; Diercks M; Kinnard T; Niejadlik K; and Ochs M (1997). The past, present and future of lung transplantation . *Am J Surg*, 173(6):523-33.
- 50.** Günther A; Ruppert C; Schmidt R; Markart P; Grimminger F; Walmrath D; and Seeger W (2001). Surfactant alteration and replacement in acute respiratory distress syndrome. *Respir Res*, 2:353-364.
- 51.** Hamm H; Kroegel C; and Hohlfeld J (1996). Surfactant: a review of its functions and relevance in adult respiratory disorders. *Respir Med*, 90:251-270.
- 52.** Hardesty RL; Aeba R; Armitage JM; Kormos RL; and Griffith BP (1993). A clinical trial of University of Wisconsin solution for pulmonary preservation. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 105(4):660-6.
- 53.** Hardy JD (1999). The first lung transplant in man (1963) and the first heart transplant in man (1964). *Transplant Proc*, 31(1-2):25-9.
- 54.** Haverich A; Scott WC; and Jamieson SW (1985). Twenty years of lung preservation- a review. *J Heart Transplant*, 4(2):234-40.
- 55.** Haverich A; Warnecke G; Fischer S; Görler A; Wilhelmi M; and Strüber M (2002). Spenderorgane im Grenzbereich bei der Herz und Lungentransplantation : Quantifizierung der Transplantatqualität, Grenzen der Akzeptanz. *Chir Gastroenteral*, 18 (suppl 1):18-23.
- 56.** Hawgood S; and Clements JA (1990). Pulmonary surfactant and its apoproteins. *J Clin Invest*, 86:1-6.
- 57.** Hawgood S; and Poulain F (2001). The pulmonary collectins and surfactant metabolism. *Annu Rev Physiol*, 63:495-519.

- 58.** Hertz M; Taylor D; Trulock E; Boucek M; Mohacsi P; Edwards L; and Keck B (2002) The registry of the international society for heart and lung transplantation : nineteenth official report - 2002. *J Heart Lung Transplant*, 21(9): 950.
- 59.** Hiramatsu Y; Muraoka R; Chiba Y; and Sasaki M (1994). Influence of pH of preservation solution on lung viability. *Ann Thorac Surg*, 58:1083-1086.
- 60.** Hirata T; Fukuse T; Nakamura T; Ueda M; Kawashima M; Hitomi S; and Wada H (2000). Reperfusion lung injury after cold preservation correlates with decreased levels of intrapulmonary high-energy phosphates. *Transplantation*, 69(9):1793-801.
- 61.** Hodges TN; Torres FP; and Zamora MR (2001). Treatment of respiratory syncytial viral and parainfluenza lower respiratory tract infections in lung transplant patients. *J Heart Lung Transplant*, 20:170.
- 62.** Hopkins DN; Bhabra MS; and Hooper TL (1998). Pulmonary craft preservation: A worldwide survey of current clinical practice. *J Heart Lung Transplant*, 17:525-531.
- 63.** Ingemansson R; SjobergT; and Steen S (1996). Importance of calcium in long-term preservation of the vasculature. *Ann Thorac Surg*, 61(4):1158-62.
- 64.** ISHLT (2007). Lung Transplantation overall. *J Heart Lung Transplant*, 26:782-795.
- 65.** Jobe AH (2000). Which surfactant for treatment of respiratory- distress syndrome? *Lancet*, 355:1380-1381.
- 66.** Kamler M; Ragette R; Herold U; Aleksic I; Marggraf G; Teschler H; and Jakob H (2005). Lungentransplantation heute: Eine etablierte Therapie bei Lungenerkrankungen im Endstadium. *Atemw.- Lungenkrkh.*, Jahrgang 31, Nr. 11/2005, S.547-561.
- 67.** Kelly RF (2000). Current strategies in lung preservation. *J Lab Clin Med*, 136(6):427-40.

68. Keshavjee SH; Yamazaki F; Cardoso PF; Mc Ritchie DI; Patterson GA; and Cooper JD (1989). A method for safe twelve-hour pulmonary preservation. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 98(4):529-34.
69. Kermeen FD; Mc Neil KD, Fraser JF; Mc Carthy J, Ziegenfuss MD, Mullany D, Dunning and Hopkins PM (2007). Resolution of Severe Ischemia- Reperfusion Injury Post- Lung Transplantation after Administration of Endobronchial Surfactant. *J Heart Lung Transplant* 2007, 26:850-6.
70. Khimenko PL; Moore TM; and Taylor AE (1996). Blocked ETA receptors prevent ischemia and reperfusion injury in rat lungs. *J Appl Physiol*, 80(1):203-7.
71. Kirk AJ; Colquhoun IW; and Dark JH (1993). Lung preservation: a review of current practice and future directions. *Ann Thorac Surg*, 56(4):990-1000.
72. Lefer AM; and Lefer DJ (1993). Pharmacology of the endothelium in ischemia-reperfusion and circulatory shock. *Ann Rev Pharmacol Toxicol*, 33:71-90.
73. Lewis JF; Norvick RJ; and Veldhuizen RAW (1997). Surfactant in lung injury and lung transplantation. *R.G. Landes*, Austin.
74. Lewis JF; and Veldhuizen RAW (2003). The role of exogenous surfactant in the treatment of acute lung injury. *Annu Rev Physiol*, 65:613-642.
75. Michel RP; and Cruz- Orive LM (1988). Application of the Cavalieri principle and vertical sections method to the lung : estimation of volume and pleural surface area. *J Microsc*, 150:117 36.
76. Meyer KC; Cardoni AL; Xiang Z; Cornwell RD; and Love RB (2001). Vascular Endothelial Growth Factor in Human Lung Transplantation. *Chest*, 119:137-43.

- 77.** Meyer KC; and Zimmermann JJ (2002). Inflammation and Surfactant. *Paediatric Respiratory Reviews*, 3, 308-314.
- 78.** Meyers BF; and Patterson GA (2002). Lung transplantation. In: Pearson FG; Cooper JD; Deslauriers J; Ginsberg RJ; Hiebert CA; Patterson GA et al., (eds) *Thoracic Surgery*, 2nd edn. Churchill Livingstone, Philadelphia, pp 1085-1114.
- 79.** Morlion B; Knoop C; Paiva M; and Estenne M (2002.) Internet- based home monitoring of pulmonary function after lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med*, 165:694–7.
- 80.** Mühlfeld C; Müller K, Pallesen LP, Sandhaus T, Madershahian N; Richter J; Wahlers T; Wittwer T; and Ochs M (2007). Impact of Preservation Solution on the Extent of Blood- Air Barrier Damage and Edema Formation in Experimental Lung Transplantation. *The Anatomical Record*, 290: 491-500.
- 81.** Muller C; Furst H; Reichenspurner H; Briegel J; Groh J; and Reichart B (1999). Lung procurement by low-potassium dextran and the effect on preservation injury. Munich Lung Transplant Group. *Transplantation*, 68(8):1139-43.
- 82.** Novick RJ (2002). Innovative techniques to enhance lung preservation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 123:3-5.
- 83.** Novick RJ; Gehman KE; Ali IS; and Lee J (1996). Lung Preservation : The Importance of Endothelial and Alveolar Typ II Cell Integrity. *Ann Thorac Surg*, 62:302-14.
- 84.** Novick RJ; Menkis AH; and McKenzie FN (1992). New trends in lung preservation: a collective review. *J Heart Lung Transplant*, 11(2 Pt 1):377-92.
- 85.** Ochs M (2001). Pulmonary surfactant preservation in experimental and clinical lung transplantation. In: Recent research developments in respiratory and critical care medicine (Pandalai SG, ed.). *Research Signpost*, Trivandrum:59-81.
- 86.** Ochs M (2006). A brief update on lung stereology. *J of Microscopy*, Vol. 222, Pt 3 June 2006, pp. 188-200.

87. Ochs M; Nenadic I; Fehrenbach A; Albes JM; Wahlers T; Richter J; and Fehrenbach H (1999). Ultrastructural Alterations in Intraalveolar Surfactant. Subtypes after Experimental Ischemia and Reperfusion. *Am J Respir Crit Care Med*, Vol 160. pp 718-724.
88. Orens JB; Boehler A; de Perrot M; Estenne M; Glanville AR; and Keshavjee (2003). A review of lung transplant donor acceptability criteria. *J Heart Lung Transplant*, 22:1183–1200.
89. Pech T. 2003. Experimentelle Untersuchungen zum Einfluss der Ischämiezeit sowie moderner Konservierungslösungen in der Lungentransplantation. Jena: Friedrich-Schiller-Universität.
90. Pegg DE (1986). Organ preservation. *Surg Clin North Am*, 66:617-632.
91. Platt J; Di Sesa V; Gail D; and Massicot- Fisher J (2002). Recommendations of the National Heart, Lung, and Blood Institute, Heart and Lung Xenotransplantation Working Group. *Circulation*, 106(9):1043-7.
92. Puskas JD; Cardoso PF; Mayer E; Shi S; Slutsky AS; and Patterson GA (1992). Equivalent eighteen- hour lung preservation with low-potassium dextran or Euro-Collins solution after prostaglandin E1 infusion. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 104(1):83-9.
93. Riou B; Guesde R; Jacquens Y; Duranteau R; and Viras P (1994). Fiberoptic bronchoscopy in brain-dead organ donors. *Am J Respir Crit Care Med*, 150:558-60.
94. Robertson PA; Sniderman SH; Laros RK Jr; Cowan R; Heilbron D; Goldenberg RL; Iams JD; and Creasy RK (1992). Neonatal morbidity according to gestational age and birth weight from five tertiary care centers in the United States, 1983 through 1986. *Am J Obstet Gynecol*, 166: 1629-1641
95. Roumen RMH; Hendriks T; and van der Ven- Jongekrijg J (1993). Cytokine patterns in Patients after major vascular surgery, hemorrhagic shock, an severe blunt trauma: relation with subsequent adult respiratory distress syndrome and multiple organ failure. *Ann Surg*, 218:769-76.

96. Sasaki M; Muraoka R, Chiba Y; and Hiramatsu Y (1996). Influence of pulmonary arterial pressure during flushing on lung preservation. *Transplantation*, 61:22-27.

97. Shiffer K (1988). Interactions of the low molecular weight group of surfactant- associated proteins (SP 5- 18) with pulmonary surfactant lipids. *Biochemistry* ;27:2689.

98. Shiraishi T; Igisu H; and Shirakusa T (1994). Effects of pH and temperature on lung preservation: a study with an isolated rat lung reperfusion model. *Ann Thorac Surg*, 57(3): 639-43.

99. Shouzaburoh D; Smedria N; and Murray PA (2000). Pulmonary vasoregulation by endothelin in conscious dogs after after left lung transplantation. *J Appl Physiol*, 88:210-18.

100. Starnes VA; Barr ML; and Cohen RG (1994). Lobar transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 108:403-11.

101. Steen S; Kimblad PO; Sjoberg T; Lindberg L; Ingemansson R; and Massa G (1994b). Safe lung preservation for twenty- four hours with Perfadex. *Ann Thorac Surg*, 57:450-457.

102. Steen S; Sjoberg T; Pierre L; Liao Q; Eriksson L; and Algotsson L (2001). Transplantation of lungs from a non-heart-beating donor. *Lancet*, 357:825-82.

103. Stammberger U; Garboni GL; Hillinger S; Schneiter D; Weder W; and Schmid RA (1999). Combined Treatment with Endothelin- and PAF- Antagonists Reduces Posttransplant Lung Ischemia/ Reperfusion Injury. *J Heart Lung Transplant*, 18:862-68.

104. Steinhoff G (1998). Molecular Basis of Transplant Infiltration and Rejection. In: Steinhoff G. (ed).Cell Adhesion Molecules in Organ Transplantation. *Karger*, Basel; 11-25.

105. Suzuki S; Inoue K; Sugita M; Tsubochi H; Kondo T; and Fujimura S (2000). Effects of EP4 solution and LPD solution vs Euro-Collins solution on Na(+)/ K(+)- ATPase activity in rat alveolar type II cells and human alveolar epithelial cell line A 549 cells. *J Heart Lung Transplant*, 19(9):887-93.

- 106.** Swanson DK; Pasaoglu I; Berkoff HA; Southard JA; and Hegge JO (1988). Improved heart preservation with UW preservation solution. *J Heart Transplant*, 7(6):456-67.
- 107.** Taeusch HW (2000). Treatment of acute (adult) respiratory distress syndrome. The holy grail of surfactant therapy. *Biol Neonate*, 77(suppl):2-8.
- 108.** Toronto Lung Transplant Group (1986). Unilateral lung transplantation for pulmonary fibrosis. *N Engl J Med*, 314(18):1140-5.
- 109.** Trulock EP; Edwards LB; Taylor DO; Boucek MM; Mohasci PJ; Keck BM (2003). The registry of the international society for heart and lung transplantation: twentieth official report. *J Heart Lung Transplant*, 22:625-635.
- 110.** Van der Kaaij NP, Haitsma JJ, Kluin J, Lambrecht BN, Lachmann B, de Bruin RW, Bogers AJ (2005). Surfactant pretreatment ameliorates ischemia- reperfusion injury of the lung. *Eur J Cardiothorac Surg*, 27:774-782.
- 111.** Van Golde LMG; Batenburg JJ; and Robertson B (1988). Metabolism of Phospholipids in the lung. *Physiol Rev*, 68:374-455.
- 112.** Vural KM; and OZ MC (2000). Endothelial adhesivity, pulmonary hemodynamics and nitric oxide synthesis in ischemia-reperfusion. *Eur J Cardiothorac Surg*, 18:348-52.
- 113.** Wahlers T; Schafers HJ; Cremer J; Jurman M; Hirt SW; Fieguth HG; and Haverich A (1991). Organ preservation for heart-lung and lung transplantation. *Thorac Cardiovasc Surg*, 39(6):344-8.
- 114.** Warnecke G; Strüber M; Hohlfield JM; Niedermeyer J; Sommer SP; and Haverich A (2002). Pulmonary preservation with Bretschneiders HTK and Celsior solution in minipigs. *Eur J Cardiothorac Surg*, 21:1073-1079.
- 115.** Weibel ER; Hsia CCW, Ochs M (2007). How much is there really? Why stereology is essential in lung morphometry. *J Appl Physiol*, 102:459-467.

- 116.** White MK; Baireddy V; and Strayer DS (2001). Natural protection from apoptosis by surfactant protein A in type II pneumocytes. *Exp Cell Res*, 263:183-192.
- 117.** Wisser W; Klepetko W; Wekerle T; Laufer G; Stift A; Hiesmayr M; and Schlick W (1996). Tailoring of the Lung to Overcome Size Disparities in Lung Transplantation. *J Heart Lung Transplant*, 15:239-42.
- 118.** Wittwer T; Franke U; Fehrenbach A; Ochs M; Sandhaus T; Schuette A; Richter S; Dreyer N; Knudsen L; Müller T; Schubert H; Richter J; and Wahlers T (2005). Experimental Lung Transplantation: Impact of Preservation Solution and Route of Delivery. *J Heart Lung Transplant*, 24:1081-90.
- 119.** Wittwer T; Wahlers T; Cornelius JF; Elki S; and Haverich A (1999a). Celsior solution for improvement of currently used clinical standards of lung preservation in an ex vivo rat model. *Eur J Cardiothorac Surg*, 15(5):667-71.
- 120.** Yamazaki F; Yokomise H; Keshavjee SH; Miyoshi S; Cardoso PF; Slutsky AS; and Patterson GA (1990). The superiority of an extracellular fluid solution over Euro-Collins' solution for pulmonary preservation. *Transplantation*, 49(4):690-4.
- 121.** Yousem SA; Berry GJ; Cagle PT; Chamberlain D; Husain AN; Hruban RH; Marchevsky A; Otori NP; Ritter J; Stewart S; and Tazelaar HD (1996). Revision of the 1990 working formulation for the classification of pulmonary allograft rejection: Lung rejection study group. *J Heart Lung Transplant*, 15:1-15.

9. Anhang

9.1. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei Allen bedanken, die zum erfolgreichen Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben:

Herrn Prof. Dr. Wahlers möchte ich danken, für die Ermöglichung meines wissenschaftlichen Arbeitens an seiner Klinik. Besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Wittwer, MA für seine wohlwollende Unterstützung und engagierte Hilfe während der experimentellen Phase als auch bei der Verfassung und Kontrolle des Manuskriptes.

Für die über viele Jahre sehr gute und intensive Zusammenarbeit danke ich Herrn Prof. Dr. Ochs und Herrn Dr. Mühlfeld, die mir freundlicher Weise Bilder und Daten der morphologischen Analyse zur Verfügung stellten und mich bei schwierigen Sachverhalten wissenschaftlich berieten. Herrn Dr. Nagib danke ich für die intensive und sehr freundliche Betreuung während der experimentellen Phase.

Für die Hilfe bei der Durchführung der Experimente danke ich dem Team des herzchirurgischen Labors am tierexperimentellen Institut der Universität Jena unter der Leitung von Frau Katrin Hornung und Frau Dunja Vehre. Herrn Dr. Schubert, Leiter des tierexperimentellen Institutes sowie seinen Mitarbeitern danke ich für die Unterstützung und nette Zusammenarbeit während der gesamten experimentellen Phase.

Herrn Dr. Volland des Institutes für Medizinische Statistik der Universität Jena danke ich für die nette und konstruktive Beratung in allen statistischen Fragen.

Frau Heintke danke ich für die Beratung in grammatikalischen und orthografischen Fragen.

Ein besonders großer Dank gilt meinen wunderbaren Eltern, meiner lieben Schwester Karolin meiner lieben Mika, meinen Großeltern sowie allen Verwandten, Freunden und Bekannten, für ihre liebevolle und unermüdliche Unterstützung in den gesamten Jahren meines Studiums und während meiner Promotion.

9.2. Lebenslauf

Name: Marcel Vollroth

Geburtstag: 20. Juni 1981 Geburtsort: Sondershausen

Schulbildung:

1988 bis 1992: Grundschule Rottleben

1992 bis 2000: Gymnasium „ Geschwister-Scholl-Sondershausen“

2000: Abitur

Wehrdienst:

2000 bis 2001: Grundwehrdienst in der Kyffhäuserkaserne Bad Frankenhausen

Studienverlauf:

10/ 2001: Immatrikulation im Bereich Humanmedizin, Friedrich-Schiller-Universität Jena

3/ 2004: Ärztliche Vorprüfung (M1)

4/ 2008: Schriftlicher Teil der Ärztlichen Prüfung (M2)

6/ 2008 : Mündlicher Teil der Ärztlichen Prüfung (M2)
und damit Abschluss des Studiums der Humanmedizin an der
Friedrich-Schiller-Universität Jena

Praktisches Jahr:

2/ 2007 bis 4/ 2007 : Klinik für Anästhesie und Intensivmedizin KH Nordhausen

4/ 2007 bis 6/ 2007 : Klinik für Anästhesie und Intensivmedizin Universität Kuala
Lumpur/ Malaysia

6/ 2007 bis 9/ 2007 : Klinik für Innere Medizin Visp/ Schweiz

9/ 2007 bis 1/ 2008 : Klinik für Gefäß- und Thoraxchirurgie Klinikum Bozen/
Südtirol

Beruflicher Werdegang

Seit 10/ 2008: Assistenzarzt für Herzchirurgie, Herzzentrum Leipzig

Leipzig, den 26.01.2009

Marcel Vollroth

9.3. Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Prof. Dr. med. Wahlers, Prof. Dr. med. habil. Wittwer, MA, Prof. Dr. med. Ochs, Dr. Mühlfeld, Dr. med. Nagib,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Leipzig, den 26.01.2009

Marcel Vollroth

9.4. Publikationsverzeichnis

Wittwer Th; Nagib R; Ochs M; Vollroth M; Mühlfeld C; Navid R; Groetzner J; Vehre D; and Wahlers Th (2006). Exogenic surfactant therapy as an adjuvant therapy for lung preservation-evaluation of the optimal time point for instillation. *J Heart Lung Transplant*, 25:162-163.

Mühlfeld C; Schaefer IM; Becker L; Bussinger C; Vollroth M; Bosch A; Nagib R; Madershahian N; Richter J; Wahlers T; Wittwer T; and Ochs M (2008). Preischemic exogenous surfactant reduces pulmonary injury in rat ischemia/reperfusion. *Eur Respir J*, (in press).